



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ – ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**  
**ΤΟΜΕΑΣ ΥΓΕΙΑΣ ΜΗΤΕΡΑΣ – ΠΑΙΔΙΟΥ**  
**Α' ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ & ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**  
**Π.Γ. ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ»**  
**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΛΟΥΤΡΑΔΗΣ**

**«Η ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ  
ΦΩΤΟΜΙΚΡΟΕΞΑΧΝΩΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ  
ΤΩΝ ΓΥΝΑΙΚΩΝ ΜΕ ΟΥΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ  
ΤΗΣ ΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΗΣ »**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**  
**ΕΛΕΝΗ ΠΙΤΣΟΥΝΗ**  
**ΜΑΙΕΥΤΗΡΑΣ - ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΟΣ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ**  
**ΣΤΑΥΡΟΣ ΑΘΑΝΑΣΙΟΥ, ΑΝ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ Ε.Κ.Π.Α.**

**ΑΘΗΝΑ**  
**2019**



## ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

- Ημερομηνία αιτήσεως της Διδακτορικής Διατριβής: 16/2/2015
- Ημερομηνία ορισμού της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 3/6/2015
- Ημερομηνία ορισμού θέματος Διατριβής: 29/9/2015
- Ημερομηνία κατάθεσης της 1<sup>ης</sup> Έκθεσης Προόδου: 6/6/2016
- Ημερομηνία κατάθεσης της 2<sup>ης</sup> Έκθεσης Προόδου: 7/6/2017
- Ημερομηνία κατάθεσης της 3<sup>ης</sup> Έκθεσης Προόδου: 15/6/2018
- **Δημοσίευση των αποτελεσμάτων της διδακτορικής διατριβής:**
  1. Pitsouni E, Grigoriadis T, Tsiveleka A, Zacharakis D, Salvatore S, Athanasiou S. Microablative fractional CO<sub>2</sub>-laser therapy and the genitourinary syndrome of menopause: An observational study. *Maturitas* 2016;94:131-6
  2. Athanasiou S, Pitsouni E, Antonopoulou S, Zacharakis D, Salvatore S, Falagas ME, Grigoriadis T. The effect of microablative fractional CO<sub>2</sub>-laser on vaginal flora of postmenopausal women. *Climacteric* 2016;19:512-8
- **Μέλη της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:**
  1. **Σταύρος Αθανασίου** (επιβλέπων): Αναπληρωτής Καθηγητής, Τομέας Υγείας-Μητέρας-Παιδιού, Α' Μαιευτική & Γυναικολογική Κλινική, Π.Γ. Νοσοκομείο «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ»
  2. **Δημήτριος Λουτράδης**: Καθηγητής, Τομέας Υγείας-Μητέρας-Παιδιού, Α' Μαιευτική & Γυναικολογική Κλινική, Π.Γ. Νοσοκομείο «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ»
  3. **Θεμιστοκλής Γρηγοριάδης**: Επίκουρος Καθηγητής, Τομέας Υγείας-Μητέρας-Παιδιού, Α' Μαιευτική & Γυναικολογική Κλινική, Π.Γ. Νοσοκομείο «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ»



## ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΣ ΟΡΚΟΣ

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ. ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ. ΗΓΗΣΕΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΤΑΥΤΗΝ. ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΝΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ'ΑΥΤΟΥ ΑΔΕΛΦΕΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΣ ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΞΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣ ΤΕ ΚΑΙ ΟΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ. ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙΝ ΠΡΗΞΙΟΙΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΙΩ, ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΑΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΙΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΕΙΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ. Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ Η ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΗΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ. ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΕΟΝΤΙ, ΤΑΛΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.



*Στη μαμά μου*





## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή αποτελεί σε διεθνές επίπεδο από τις πρώτες ολοκληρωμένες μελέτες σε 2 πολύ καινούριες έννοιες όπως είναι το ουρογεννητικό σύνδρομο της εμμηνόπαυσης και η θεραπευτική του αντιμετώπιση του με θεραπείες laser όπου εμφανίστηκαν μόλις λίγους μήνες πριν την αίτηση της παρούσας διατριβής. Θα ήθελα να ευχαριστήσω λοιπόν τον Επιβλέποντα μου κ. Σταύρο Αθανασίου, Αναπληρωτή Καθηγητή, ο οποίος μου εμπιστεύτηκε το όραμα και τις ιδέες του και μου έδωσε την ευκαιρία να δουλέψω σε κάτι τόσο καινούριο και με διεθνές αντίκτυπο και ενδιαφέρον. Χωρίς την καθοδήγηση, υπομονή, συμπαράσταση, υποστήριξη και βοήθεια του κ. Αθανασίου τίποτα από όλα όσα περιλαμβάνονται σε αυτήν την μελέτη δεν θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί και τον ευχαριστώ ιδιαίτερω και είναι μεγάλη μου τιμή που με έκανε μέλος της πνευματικής και επαγγελματικής του οικογένειας που ονομάζεται «Ουρογυναικολογία και Χειρουργική Αποκατάσταση του Πυελικού Εδάφους» και που είναι μέντορας μου.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω από βάθη καρδιάς τον Καθηγητή και Διευθυντή της Α' Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής τον κ. Δημήτριο Λουτράδη, μέλος της Τριμελούς Επιτροπής, που με εμπιστεύτηκε, με δέχτηκε ως υποψήφια Διδάκτωρ και μου έδωσε την ευκαιρία να βρίσκομαι ως ενεργό μέλος της Κλινικής που Διευθύνει δίνοντας μου τον χώρο για να καλλιεργήσω τις δυνατότητες μου, να διευρύνω το πνεύμα και τις γνώσεις μου. Εύχομαι και ελπίζω με τον παρόν πρωτόκολλο αλλά και με την γενικότερη δουλειά μου να είμαι και τώρα και στο μέλλον άξια της εμπιστοσύνης του.

Ευχαριστώ θερμά τον κ. Θεμιστοκλή Γρηγοριάδη, Επίκουρο Καθηγητή, μέλος της Τριμελούς Επιτροπής που στάθηκε και συνεχίζει να στέκεται

αρωγός σε όλες μου τις προσπάθειες και που μου συμπαρίσταται ως πολύτιμος φίλος με ευαισθησία και κατανόηση σε όλη μου την πορεία όχι μόνο στην διαδικασία εκπόνησης της διδακτορικής διατριβής αλλά και γενικότερα των δυσκολιών που έχω αντιμετωπίσει και αντιμετωπίζω.

Ευχαριστώ επίσης όλα τα μέλη της Α΄ Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής που συντέλεσαν υποστηρικτικά στην παρούσα διατριβή και ιδιαίτερος τον Καθηγητή τον κ.Αλέξανδρο Ροδολάκη, ο οποίος αποτελεί μια ακόμα πηγή έμπνευσης, δύναμης και κουράγιου για μένα και που πρεσβεύει ότι η ζωή είναι ανταποδοτική και ότι στην μεγάλη οικογένεια της Α΄ Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής όσοι άνθρωποι δουλεύουν και προσπαθούν για το καλύτερο είναι ευπρόσδεκτοι.

Κυρίως ευχαριστώ την μαμά μου που αφιέρωσε όλη της την ζωή σε μένα και στον αδερφό μου, που με έμαθε να πατάω στα πόδια μου, να θέτω στόχους και να δουλεύω σκληρά για να τους υλοποιήσω, που με στήριξε κάθε στιγμή της ζωής μου, σε κάθε μου απόφαση και ειδικά στο δύσκολο ταξίδι της ενασχόλησης μου με την ιατρική και που στερήθηκε την προσωπική της διασκέδαση και ζωή για να είναι δίπλα μου στις ατελείωτες ώρες διαβάσματος και προσπάθειας και που χωρίς εκείνη δεν θα είχα φτάσει εδώ. Την ευχαριστώ γιατί πάντα ήταν και θα είναι η καλύτερη μου φίλη, η μαμά μου, η δύναμη μου, η πηγή έμπνευσης μου και το στήριγμα μου. Αν και έφυγε νωρίς ζει πάντα μέσα μου, οι αξίες της και η αγάπη της για τους ανθρώπους με καθοδηγούν και κάθε μου επιτυχία είναι αφιερωμένη σε εκείνη.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	15
ABSTRACT .....	16
A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....	17
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΗ .....	18
1.1 Εισαγωγή – Ορισμός .....	19
1.2 Παθοφυσιολογία .....	21
1.3 Συμπτώματα .....	23
1.4 Διάγνωση .....	25
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΟΥΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΤΗΣ ΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΗΣ	
2.1 Εισαγωγή .....	27
2.2 Ορισμός .....	28
2.3 Παθοφυσιολογία .....	29
2.3.1 Αλλαγές στο Ουρογεννητικό Σύστημα .....	35
2.3.1.1 Αλλαγές στο Κατώτερο Γεννητικό Σύστημα .....	35
2.3.1.2 Αλλαγές στο Κατώτερο Ουροποιητικό Σύστημα .....	39
2.3.2 Προδιαθεσικοί Παράγοντες .....	40
2.4 Συμπτώματα, Σεξουαλική Υγεία και Ποιότητα Ζωής .....	40
2.5 Διάγνωση .....	43
2.6 Θεραπευτική αντιμετώπιση .....	45
2.6.1 Μη Ορμονικές Τοπικές Θεραπείες .....	46

2.6.1.1	Κολπικά λιπαντικά και ενυδατικά .....	46
2.6.1.2	Φυσιοθεραπεία μυών πυελικού εδάφους .....	48
2.6.1.3	Αλλαγές στον τρόπο ζωής .....	48
2.6.2	Ορμονικές Θεραπείες .....	49
2.6.2.1	Κολπικά οιστρογόνα .....	49
2.6.2.2	Συστηματική χορήγηση θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης .....	50
2.6.2.3	Άλλες ορμονικές θεραπείες τοπικές ή συστηματικές .....	51
	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΦΩΤΟΜΙΚΡΟΕΞΑΧΝΩΣΗ «LASER» .....</b>	<b>56</b>
3.1	Εισαγωγή .....	57
3.2	Βασικές αρχές λειτουργίας των laser .....	57
3.3	Εφαρμογή θεραπειών με laser μηχανήματα .....	61
3.3.1	Εφαρμογή θεραπείας laser σε γυναίκες με ουρογεννητικό σύνδρομο της εμμηνόπαυσης: Δεδομένα από την διεθνή βιβλιογραφία .....	62
	<b>B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....</b>	<b>65</b>
	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΣΚΟΠΟΣ ΤΟΥ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ .....</b>	<b>66</b>
	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ .....</b>	<b>69</b>
2.1	Θεραπευτικό πρωτόκολλο .....	70
2.2	Κριτήρια εισαγωγής στην μελέτη .....	72
2.3	Κριτήρια αποκλεισμού από την μελέτη .....	72
2.4	Αποτελέσματα της μελέτης και διαδικασία συλλογής τους .....	73
2.4.1	Πρωτεύοντα αποτελέσματα της μελέτης .....	74
2.4.2	Δευτερεύοντα αποτελέσματα της μελέτης .....	75
2.5	Στατιστική Ανάλυση .....	80

<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....</b>	<b>82</b>
3.1 Πρωτεύοντα αποτελέσματα της μελέτης .....	83
3.2 Δευτερεύοντα αποτελέσματα της μελέτης .....	85
3.2.1 Συμπτώματα ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης .....	85
3.2.2 Ποιότητα ζωής .....	88
3.2.3 Άποψη των γυναικών για την θεραπεία .....	89
3.2.4 pH του κολπικού υγρού και μικροβιολογική χλωρίδα .....	90
3.3 Ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης .....	94
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....</b>	<b>95</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....</b>	<b>103</b>



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ:** Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η αναζήτηση της αποτελεσματικότητας της ενδοκολπικής θεραπείας με CO<sub>2</sub>-laser στην αντιμετώπιση του ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης σαν ολότητα.

**ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ:** Τρεις ενδοκολπικές θεραπείες με CO<sub>2</sub> – laser (1 θεραπεία/μήνα) εφαρμόστηκαν σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με  $\geq 1$  μέτριας/σοβαρής έντασης συμπτωμάτων ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης. Πρωτεύοντα αποτελέσματα της μελέτης ήταν ο δείκτης ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου και ο δείκτης υγείας του κόλπου. Δευτερεύοντα αποτελέσματα της μελέτης ήταν τα συμπτώματα από το κατώτερο γεννητικό (10 εκατοστών αναλογική κλίμακα) και κατώτερο ουροποιητικό σύστημα (ειδικά ερωτηματολόγια εκτίμησης συμπτωμάτων από το κατώτερο ουροποιητικό), η σεξουαλική υγεία (δείκτης σεξουαλικής λειτουργικότητας των γυναικών), η ποιότητα ζωής και η άποψη των γυναικών για την θεραπεία, το pH του κολπικού υγρού και η μικροβιολογική χλωρίδα του κόλπου. Όλες οι βασικές συγκρίσεις έγιναν ανάμεσα στα δεδομένα πριν την έναρξη του πρωτοκόλλου με τα αντίστοιχα 1 μήνα μετά την 3<sup>η</sup> θεραπεία (12 εβδομάδες παρακολούθησης).

**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:** Πενήντα τρεις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (μέση τιμή ηλικίας  $57.2 \pm 5.4$ ) πληρούσαν τα κριτήρια εισαγωγής στην μελέτη. Στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης όλα τα αποτελέσματα (πρωτεύοντα και δευτερεύοντα) βελτιώθηκαν με στατιστικά και κλινικά σημαντικό τρόπο. Ενδεικτικά, ο δείκτης ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου αυξήθηκε από  $11.7 \pm 15.6$  πριν την έναρξη του πρωτοκόλλου σε  $44.2 \pm 13.7$  στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης ( $p$ -value  $< 0.001$ ), η δυσπαρέυνια μειώθηκε από  $7.7 \pm 2.5$  σε  $2.3 \pm 2.2$  ( $p$ -value  $< 0.001$ ), η ξηρότητα μειώθηκε από  $6.1 \pm 3.1$  σε  $1.7 \pm 1.9$  ( $p$ -value  $< 0.001$ ), ενώ η σεξουαλική υγεία αυξήθηκε από  $13.7 \pm 8.1$  σε  $25.9 \pm 4.6$  ( $p$ -value  $< 0.001$ ). Κατά την ολοκλήρωση του πρωτοκόλλου το 100% των γυναικών δήλωσε ότι ήταν πολύ ικανοποιημένες/ικανοποιημένες από την θεραπεία ενώ το 90% των γυναικών δήλωσε ότι ένιωθε πάρα πολύ καλύτερα/πολύ καλύτερα μετά την θεραπεία.

**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ:** Η διερεύνηση της αποτελεσματικότητας του CO<sub>2</sub>-laser με ολιστικό τρόπο, λαμβάνοντας υπ'οψηφιν αντικειμενικές και υποκειμενικές παραμέτρους όπως πραγματοποιήθηκε στο παρόν πρωτόκολλο, επιτελείται για πρώτη φορά σε διεθνές επίπεδο. Μάλιστα, υπήρξαν ενδείξεις ότι η χρήση του CO<sub>2</sub>-laser για την αντιμετώπιση του ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης φαίνεται να αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη θεραπεία εφόσον φαίνεται ότι μπορεί να βελτιώσει τόσο τη τοπική φυσιολογία των εμμηνοπαυσιακών γυναικών όσο και όλων των συμπτωμάτων του ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης. Απαιτείται όμως περαιτέρω διερεύνηση.

## **ABSTRACT**

**AIM OF THE STUDY:** The aim of the current study is to assess the effectiveness of microablative fractional CO<sub>2</sub>-laser therapy for the management of genitourinary syndrome of menopause (GSM).

**METHODS:** Three intravaginally administered therapies of CO<sub>2</sub>-laser (1 therapy/month) were applied in postmenopausal women with  $\geq 1$  moderate/severe intensity of GSM symptoms. Women had to have clinical signs of GSM as well. Primary outcomes of the study were the Vaginal Maturation Value (VMV) and the Vaginal Health Index (VHI). Secondary outcomes were symptoms from the lower genital [by a 10-cm Visual Analogue Scale (10-cm VAS)] and lower urinary tract system (by validated condition specific questionnaires), sexual health [by Female Sexual Function Index (FSFI)], women's quality of life and impression regarding the CO<sub>2</sub>-laser therapy, pH of the vaginal fluid and the vaginal microenvironment. All comparisons were performed between values of outcomes before the initiation of the laser therapy (baseline) and 1-month following the completion of the protocol (12-weeks follow-up).

**RESULTS:** Fifty-three postmenopausal women (mean age  $57.2 \pm 5.4$ ) were eligible to be included in the current protocol. At 12-weeks follow-up all outcomes (primary and secondary) were statistically and clinically significantly improved compared to the baseline. Thus, VMV improved from  $11.7 \pm 15.6$  at baseline to  $44.2 \pm 13.7$  at 12-weeks follow-up (p-value  $< 0.001$ ), dyspareunia decreased from  $7.7 \pm 2.5$  to  $2.3 \pm 2.2$  (p-value  $< 0.001$ ), dryness decreased from  $6.1 \pm 3.1$  to  $1.7 \pm 1.9$  (p-value  $< 0.001$ ), while sexual health increased from  $13.7 \pm 8.1$  to  $25.9 \pm 4.6$  (p-value  $< 0.001$ ). At the end of the therapeutic protocol all women (100%) declared very satisfied/satisfied with the treatment, while 90% of women reported that they felt very much better/much better in comparison to the baseline.

**CONCLUSION:** The efficacy of CO<sub>2</sub>-laser was assessed for the first time with a holistic approach using objective and subjective measures. The results of this study indicate that intravaginally administered CO<sub>2</sub>-laser therapy is promising for the management of GSM as it may improve the local pathophysiology as well as all GSM symptoms. High quality randomized controlled trials are needed for the results of this study to be confirmed.

**Keywords:** laser, intravaginal therapies, sexual dysfunction, quality of life, menopause



## **A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1**  
**«ΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΗ»**

## 1.1 Εισαγωγή - Ορισμός

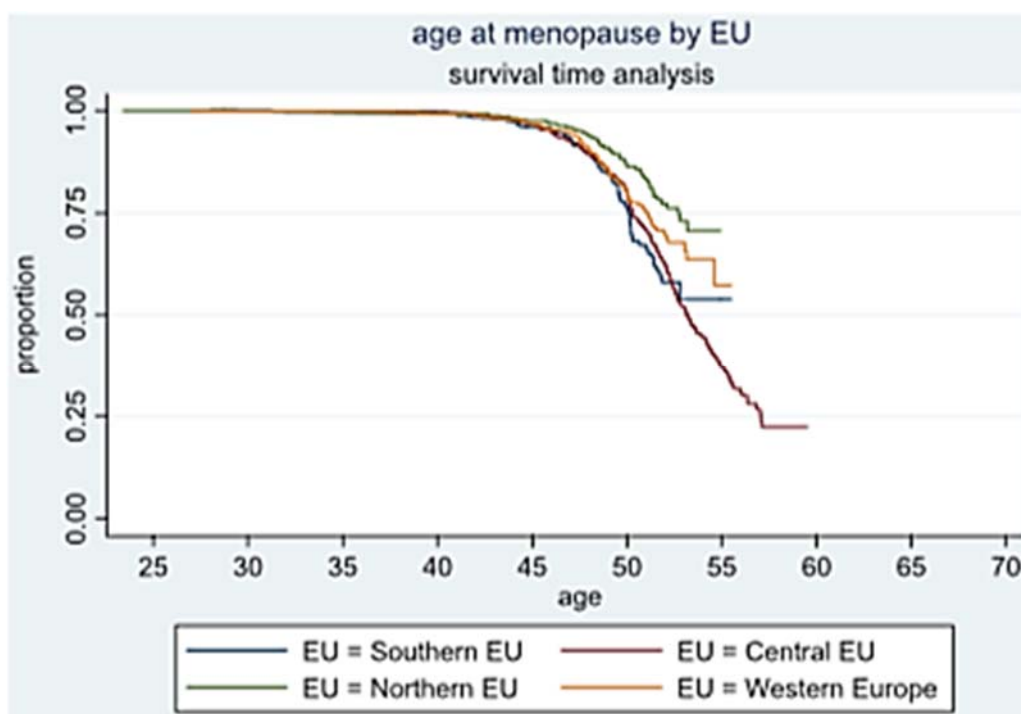
Η ζωή των ενήλικων γυναικών διαχωρίζεται σε 3 φάσεις σύμφωνα με τα στάδια του εργαστηρίου της αναπαραγωγικής ηλικίας («Stages of Reproductive Aging Workshop +10 (STRAW + 10)»): την **αναπαραγωγική** φάση, την **φάση μετάβασης** στην εμμηνόπαυση και την **μετεμμηνόπαυσιακή** φάση [1]. Λαμβάνοντας ως σημείο μηδέν την τελευταία έμμηνο ρύση στην ζωή της γυναίκας η αναπαραγωγική φάση χωρίζεται στα στάδια -5, -4 και -3, η μετάβαση στην εμμηνόπαυση στα στάδια -2 και -1, ενώ η μετεμμηνόπαυσιακή φάση στα στάδια +1 που αποτελεί το πρώιμο στάδιο (με 3 υποομάδες +1a, +1b και +1c) και +2 που αποτελεί το όψιμο στάδιο [1]. Το στάδιο +1a σηματοδοτεί το τέλος της 12μηνιαίας περιόδου αμηνόρροιας και το πέρας της περιεμμηνόπαυσιακής κατάστασης [1].

**Φυσιολογική εμμηνόπαυση** ορίζεται η απουσία εμμηνόρροιας για ένα έτος που συσχετίζεται με υπεργοναδοτροφική κατάσταση λόγω αλλαγές στον άξονα ωθήκη-υποθάλαμο-υπόφυση [1-4]. Στην Εικόνα 1 απεικονίζονται τα στάδια της ζωής των γυναικών σε συνάρτηση με τα κύρια και επικουρικά κριτήρια διάγνωσης και τα περιγραφικά χαρακτηριστικά όπως αυτά καθορίστηκαν από το STRAW+10.

Stage	-5	-4	-3b	-3a	-2	-1	+1 a	+1b	+1c	+2
Terminology	REPRODUCTIVE				MENOPAUSAL TRANSITION		POSTMENOPAUSE			
	Early	Peak	Late		Early	Late	Early			Late
					Perimenopause					
Duration	variable				variable	1-3 years	2 years (1+1)	3-6 years	Remaining lifespan	
<b>PRINCIPAL CRITERIA</b>										
Menstrual Cycle	Variable to regular	Regular	Regular	Subtle changes in Flow/Length	Variable Length Persistent ≥7- day difference in length of consecutive cycles	Interval of amenorrhea of ≥60 days				
<b>SUPPORTIVE CRITERIA</b>										
Endocrine FSH AMH Inhibin B			Low Low	Variable Low Low	↑ Variable Low Low	↑ >25 IU/L** Low Low	↑ Variable Low Low	Stabilizes Very Low Very Low		
Antral Follicle Count			Low	Low	Low	Low	Very Low	Very Low		
<b>DESCRIPTIVE CHARACTERISTICS</b>										
Symptoms						Vasomotor symptoms Likely	Vasomotor symptoms Most Likely			Increasing symptoms of urogenital atrophy

Εικόνα 1. Τα στάδια της ζωής των ενήλικων γυναικών [Harlow et al. *Menopause* 2012 (Παραπομπή νούμερο 1)]

Η ηλικία εμφάνισης της φυσιολογικής εμμηνόπαυσης συσχετίζεται με γενετικούς, κοινωνικοοικονομικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες αλλά και παράγοντες συμπεριφοράς (π.χ φυσική δραστηριότητα, διαιτητικές συνήθειες, κάπνισμα κ.α) [4-8]. Μάλιστα, η έκπτωση της ωθητικής λειτουργίας ξεκινάει περίπου στα τέλη της 4<sup>ης</sup> δεκαετίας της ζωής των γυναικών με τις περισσότερες γυναίκες να παρουσιάζουν πλήρη απώλεια αυτής κατά τα μισά της 6<sup>ης</sup> δεκαετίας [9]. Συγκεκριμένα, έχει υπολογιστεί ότι η ενδιάμεση ηλικία της τελευταίας εμμήνου ρύσεως στις Ευρωπαϊκές χώρες είναι περί τα 54.3 έτη με τις νότιο Ευρωπαίες να έχουν χαμηλότερη ενδιάμεση ηλικία περί τα 50 έτη (Σχεδιάγραμμα 1) [8].



**Σχεδιάγραμμα 1.** Ηλικία εμφάνισης της φυσιολογικής εμμηνόπαυσης [Dratva et al. *Menopause* 2009 (παραπομπή 8)]

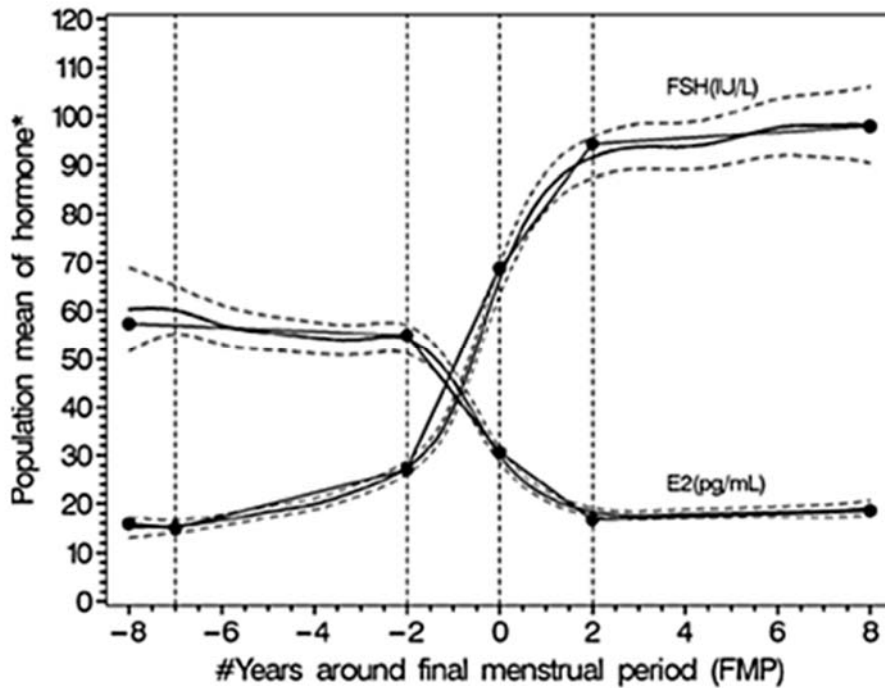
Εκτός της φυσιολογικής εμμηνόπαυσης υπάρχει και η ιατρογενής εμμηνόπαυση που μπορεί να είναι χειρουργική ή φαρμακευτική. Η χειρουργική εμμηνόπαυση στην Ευρώπη εμφανίζει ποσοστό που ποικίλει από 23% στην Γαλλία έως 52% στο Ηνωμένο Βασίλειο [8]. Μάλιστα, σε σύγκριση με την φυσιολογική εμμηνόπαυση η χειρουργική συσχετίζεται με νεαρότερη ηλικία έναρξης της εμμηνόπαυσης [8].

## 1.2 Παθοφυσιολογία

Ο άξονας ωθήκη-υποθάλαμος-υπόφυση είναι ένας κλασσικός συνεχής κύκλος αρνητικής ανατροφοδότησης, με εξαίρεση την έκκριση των γοναδοτροφινών κατά την μεσότητα του εμμηνορρυσιακού κύκλου [10]. Οι γοναδοτροφίνες αυξάνουν την παραγωγή ορμονών από τις ωθήκες οι οποίες με την σειρά τους καταστέλλουν την παραγωγή των γοναδοτροφινών διατηρώντας μια δυναμική ισορροπία. Συγκεκριμένα, τα κοκκώδη κύτταρα της ωθήκης παράγουν την ινχιμπίνη Β και την οιστραδιόλη ενώ τα κύτταρα της θήκης τα ανδρογόνα [τεστοστερόνη, ανδροστενεδιόνη και δεϋδροαπιανδροστερόνη(DHEA) υπό την επίδραση της Luteneizing Hormone (LH)]. Αύξηση της ινχιμπίνης Β καταστέλλει την παραγωγή της Follicular Stimulating Hormone (FSH) ενώ αύξηση της οιστραδιόλης καταστέλλει την παραγωγή της LH και αυξάνει την SHBG. Επιπλέον, κατά την ωορρηξία δημιουργείται το ωχρο σωματίο το οποίο με την σειρά του παράγει την προγεστερόνη.

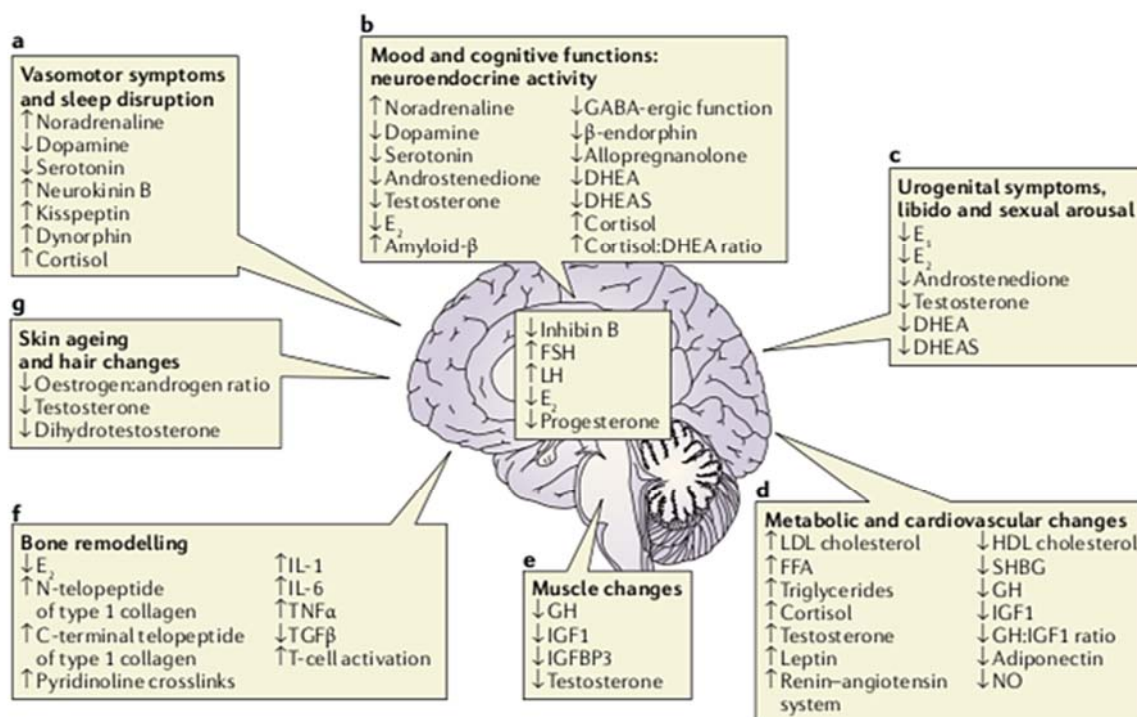
Από την ενδομήτρια όμως ζωή μέχρι και την εμμηνόπαυση υπάρχει σταδιακή μείωση των αποθεμάτων των ωοθυλακίων μέχρι τελικά εξάντλησης αυτών. Η μείωση των ωοθυλακίων έχει σαν αποτέλεσμα την μείωση του όγκου της ωθήκης, μείωση της αρνητικής ανατροφοδότησης του άξονα ωθήκη-υποθάλαμος-υπόφυση με συνέπεια μείωση των επιπέδων της ινχιμπίνης Β, οιστραδιόλης, SHBG, αντι-Μυλλέριαν ορμόνης (AMH) και προγεστερόνης, αύξηση της Gonadotropin Release Hormone (GnRH), FSH και LH [10, 11].

Τα επίπεδα οιστραδιόλης στο αίμα κατά την αναπαραγωγική ηλικία κυμαίνονται από 10 έως 800 pg/ml ανάλογα με την φάση του εμμηνορρυσιακού κύκλου και είναι πολύ υψηλότερα από εκείνα της οιστρονής [9, 12]. Η σύνθεση τους στο μεγαλύτερο ποσοστό πραγματοποιείται κεντρικά από τις ωθήκες και σε μικρότερο ποσοστό από τον λιπώδη ιστό. Μετά την εμμηνόπαυση τα επίπεδα της οιστραδιόλης είναι συνήθως κάτω των 20 pg/ml [13]. Σε αυτήν την περίπτωση, σχεδόν αποκλειστικά, η οιστραδιόλη δημιουργείται περιφερικά στον λιπώδη ιστό από την επινεφριδιακή ανδροστενεδιόνη [9]. Μάλιστα, τα επίπεδα οιστρονής στο αίμα φαίνεται να είναι λίγο ψηλότερα από εκείνα της οιστραδιόλης [12]. Η μείωση των επιπέδων της οιστραδιόλης και η αύξηση της FSH ξεκινάει πριν την τελευταία έμμηνο ρύση, φτάνει στα κατώτερα επίπεδα 2 χρόνια μετά την τελευταία εμμηνορρυσία και στην συνέχεια σταθεροποιείται (Σχεδιάγραμμα 2) [13]. Τα ανδρογόνα από την άλλη δεν μειώνονται δραματικά κατά την εμμηνόπαυση αλλά υφίστανται σταδιακή μείωση καθ'όλη την διάρκεια της ενήλικης ζωής των γυναικών [14].



**Σχεδιάγραμμα 2.** Μέση τιμή των επιπέδων της οιστραδιόλης και FSH ανάλογα με την τελευταία έμμηνο ρύση [Randolph et al. *J Clin Endocrinol Metabolism* 2011 (Παραπομπή 13)]

Εκτός από τις ορμονικές αλλαγές που περιγράφηκαν πιο πάνω, μεταβολές παρατηρούνται και σε μια πλειάδα άλλων ορμονών και βιοχημικών ουσιών όπως η κορτιζόλη, λεπτίνη, ρενίνη, αγγειοτένσινη, χοληστερόλη κ.α (Εικόνα 2) [10, 11]. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να γίνονται αλλαγές σε όλους τους ιστούς και τα συστήματα της γυναίκας: κεντρικό νευρικό σύστημα, δέρμα, μαλλιά, σωματικό βάρος και μεταβολισμό, μυοσκελετικό σύστημα, καρδιαγγειακό σύστημα, ουρογεννητικό σύστημα και σεξουαλική λειτουργικότητα [11]. Στην Εικόνα 2 απεικονίζονται όλες οι μεταβολές των ορμονών και βιοχημικών ουσιών που παρατηρούνται κατά την εμμηνόπαυση σε συνάρτηση με την επίδραση στους διάφορους ιστούς.



**Εικόνα 2.** Μεταβολές των ορμονών και συνέπειες τους κατά την εμμηνόπαυση [Monteleone et al. *Nat Rev Endocrinol* 2018 (παραπομπή 11)].

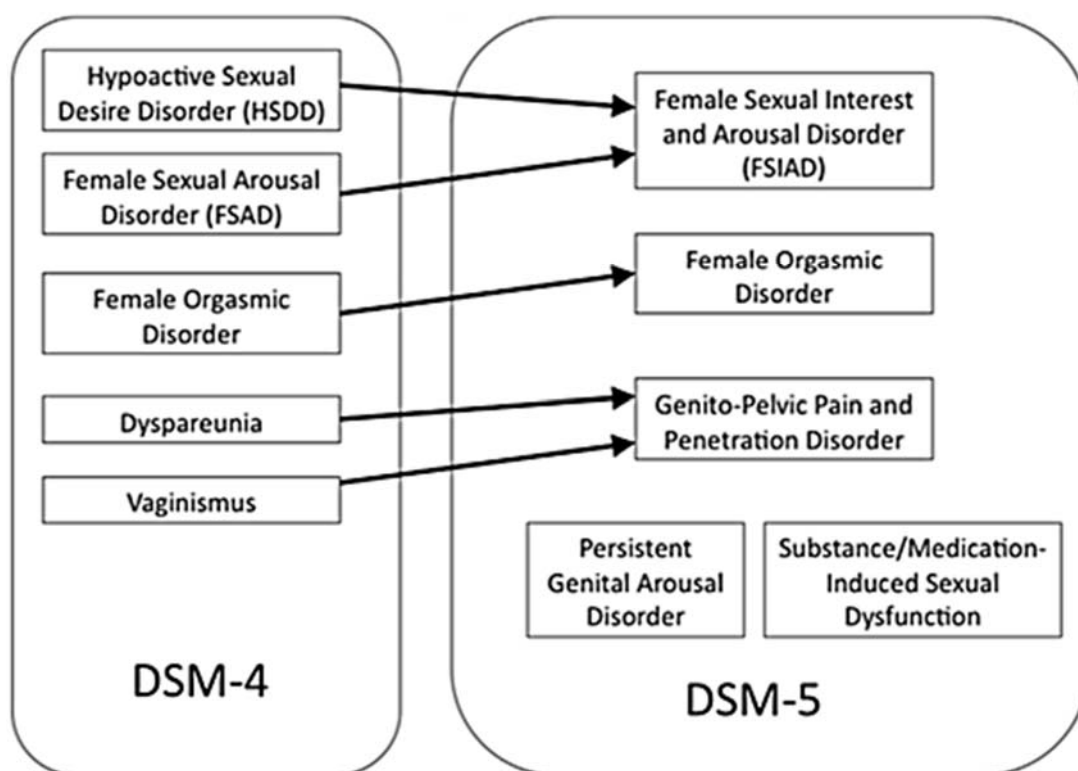
### 1.3 Συμπτώματα

Το γεγονός ότι η εμμηνόπαυση είναι μια πολυσύνθετη διαδικασία μεταβολής ορμονών και βιοχημικών ουσιών που επηρεάζουν την ανατομία και λειτουργία όλων των ιστών της γυναίκας συντελεί στην εμφάνιση ποικιλίας συμπτωμάτων και σημείων από όλα τα συστήματα [11]:

- 1) **Κεντρικό νευρικό σύστημα:** Ημικρανία, αλλαγές στην μνήμη, διαταραχές ύπνου, κατάθλιψη, άγχος και αγγειακά συμπτώματα όπως εξάψεις, εφίδρωση.
- 2) **Μυοσκελετικό σύστημα:** Οστεοπόρωση, μείωση του μυϊκού ιστού, οστεοαρθρίτιδα, μυαλγίες, αρθραλγίες.
- 3) **Καρδιαγγειακό σύστημα:** Αθηροσκλήρωση, αύξηση της αρτηριακής πίεσης και καρδιαγγειακά συμβάματα..
- 4) **Ενδοκρινολογικό και προβλήματα μεταβολισμού:** Αύξηση του σωματικού βάρους, εναπόθεση λίπους στην κοιλιακή χώρα και αύξηση της περιφέρειας της μέσης, αύξηση της αντίστασης στην ινσουλίνη και εμφάνιση σακχαρώδους διαβήτη.
- 5) **Δέρμα και βλεννογόνοι:** Αύξηση των ρυτίδων του προσώπου λόγω ελάττωσης του πάχους της επιδερμίδας, της ελαστικότητας και της υγρασίας του δέρματος, αλλαγές στην τριχοφυΐα και απώλεια μαλλιών.

- 6) **Ουρογεννητικό σύστημα:** Αδαιοκολπική ξηρότητα, αίσθημα καύσου και κνησμού, δυσουρία, συχνουρία, επιτακτικού τύπου συμπτώματα, ακράτεια ούρων, υποτροπιάζουσες ουρολοιμώξεις.
- 7) **Σεξουαλική δυσλειτουργία:** πόνος κατά την σεξουαλική επαφή, μείωση της διάθεσης για σεξουαλική επαφή, ικανότητας οργασμού και απόλαυσης της σεξουαλικής ζωής [11, 15]. Στην Εικόνα 3 απεικονίζεται η κατηγοριοποίηση της σεξουαλικής δυσλειτουργίας που μπορεί να εμφανιστεί κατά την εμμηνόπαυση.

Όλα τα παραπάνω συμπτώματα έχουν αρνητικό αντίκτυπο στην κοινωνικοποίηση, διαπροσωπικές σχέσεις, απόδοση στην εργασία και γενικότερα στην ποιότητα ζωής των γυναικών ήδη από την φάση μετάβασης στην εμμηνόπαυση [11, 15]. Η επίπτωση όμως και η επικράτηση των εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων όπως και η επίδραση αυτών στην ποιότητα ζωής των γυναικών εξαρτάται από την εθνικότητα, από την προσωπικότητα και προσωπική ιστορία της κάθε γυναίκας, την κοινωνικοοικονομική κατάσταση, το σωματικό βάρος, το ατομικό και κληρονομικό ιστορικό [11]. Η παρουσία και σοβαρότητα των συμπτωμάτων συσχετίζεται και με το είδος εμμηνόπαυσης [16]. Έχει ανευρεθεί ότι γυναίκες που έχουν υποβληθεί σε χειρουργική εμμηνόπαυση (υστερεκτομή μετά των εξαρτημάτων) έχουν πιο συχνά και πιο σοβαρά εμμηνοπαυσιακά συμπτώματα σε σύγκριση με γυναίκες με φυσιολογική εμμηνόπαυση [17].



**Εικόνα 3.** Κατηγοριοποίηση της σεξουαλικής δυσλειτουργίας [Thomas et al. *Obstet Gynecol Clin N Am* 2018 (παραπομπή 15)]



## 1.4 Διάγνωση

Όπως απεικονίζεται στην Εικόνα 1 κύριο κριτήριο για την διάγνωση της φάσης που βρίσκεται η γυναίκα είναι ο εμμηνορρυσιακός κύκλος [1]. Δώδεκα μήνες αμηνόρροιας χωρίς την παρουσία άλλης παθολογίας που να δικαιολογεί την απουσία εμμήνου ρύσεως (π.χ υπερπρολακτιναιμία, υποθυρεοειδισμός κ.α) αρκεί για να τεθεί η διάγνωση της εμμηνόπαυσης.

Ως υποστηρικτικά κριτήρια της διάγνωσης της εμμηνόπαυσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν τα επίπεδα στο αίμα της FSH τα οποία αρχικά αυξάνονται και μετά σταθεροποιούνται σε υψηλά επίπεδα, της AMH και ινχιμπίνης Β που είναι χαμηλά έως πολύ χαμηλά, όπως και ο αριθμός των ωοθυλακίων στο απλό διακολπικό υπερηχογράφημα που είναι πολύ μικρός (Εικόνα 1) [1]. Τελευταία έχει προταθεί και η μέτρηση pH του κολπικού υγρού ως δείκτης παρουσίας της εμμηνόπαυσης [18]. Μάλιστα, έχει βρεθεί ότι pH >4.5, σε απουσία κολπίτιδας μικροβιακής αιτιολογίας, έχει μεγαλύτερη ευαισθησία ανίχνευσης της εμμηνόπαυσης σε σύγκριση με την FSH (84.9% έναντι 77.4%) [18].

Σε γυναίκες όμως που έχουν υποβληθεί σε υστερεκτομή ή καταστροφή του ενδομητρικού ιστού το κύριο κριτήριο της εμμήνου ρύσεως δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό του σταδίου στο οποίο βρίσκονται [19]. Μόνο τα επικουρικά κριτήρια μπορούν να βοηθήσουν στην διάγνωση [19]. Μάλιστα, το ενδοκρινολογικό προφίλ θα πρέπει να προσδιορίζεται τουλάχιστον 3 μήνες μετά το χειρουργείο, ενώ χρειάζεται το λιγότερο μια επανάληψη της μέτρησης [1].

Επίσης, σε γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών ή υποθαλαμικής αιτιολογίας αμηνόρροια ή που έχουν υποβληθεί σε χημειοθεραπεία, το κύριο κριτήριο της εμμήνου ρύσεως δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί, ενώ ακόμα και τα επικουρικά κριτήρια είναι υπό αμφισβήτηση [1]. Για παράδειγμα στις γυναίκες που έχουν υποβληθεί σε χημειοθεραπεία το ενδοκρινολογικό προφίλ μπορεί να παρουσιάζει μεταβατικές μεταβολές (π.χ υψηλά επίπεδα FSH και χαμηλά επίπεδα AMH) και τελικά η έμμηνος ρύση να επανεμφανίζεται ακόμα και πάνω από 12 μήνες από την τελευταία περίοδο [1, 20].

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2**

### **«ΟΥΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΤΗΣ ΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΗΣ»**

## 2.1 Εισαγωγή

Μέχρι το 2014 οι επιπτώσεις της πτώσης τόσο των οιστρογόνων όσο και των ανδρογόνων που παρατηρούνται στο ουρογεννητικό σύστημα κατά την εμμηνόπαυση, χαρακτηριζόντουσαν με τον όρο **«Αιδοιοκολπική Ατροφία»** ή **«Ατροφική Κολπίτιδα»** [21]. Από το 2012 όμως, το συμβούλιο των διευθυντών της «International Society for the Study of Women's Sexual Health (ISSWSH)» και το συμβούλιο της «North American Menopause Society (NAMS)» αναγνώρισαν ότι οι 2 πιο πάνω ορολογίες δεν επαρκούσαν για να προσδιορίσουν όλα τα σημεία και συμπτώματα από το ουρογεννητικό σύστημα των εμμηνοπαυσιακών γυναικών [21]. Έτσι, τον Μάιο του 2013 πραγματοποιήθηκε ένα συνέδριο από την ISSWSH σε συνεργασία με την NAMS με σκοπό την αναθεώρηση των πιο πάνω όρων και την ανεύρεση μιας ορολογίας ιατρικά σωστότερης που θα περιέγραφε με ακρίβεια όλα τα σημεία και συμπτώματα από το ουρογεννητικό σύστημα κατά την εμμηνόπαυση. Επίσης, στόχο είχαν να δημιουργήσουν μια ορολογία που θα αύξανε την επίγνωση των κλινικών γιατρών όσον αφορά την πολυπλοκότητα των συμπτωμάτων από το ουρογεννητικό σύστημα που μπορούν να εμφανιστούν κατά την εμμηνόπαυση, ώστε να βελτιωθεί η υγεία και ποιότητα ζωής των γυναικών μετά την εμμηνόπαυση. Είναι χαρακτηριστικό ότι στην επιλογή του όρου λήφθηκε υπόψη και η άποψη των γυναικών ώστε να διαμορφωθεί μια ορολογία που δεν θα τις έφερνε σε δύσκολη θέση αλλά θα επέτρεπε την ανοιχτή συζήτηση για το πρόβλημα τους. Αφού λοιπόν συζητήθηκαν και εκτιμήθηκαν διάφορες ορολογίες τελικά κατέληξαν στην ορολογία **«Ουρογεννητικό Σύνδρομο της Εμμηνόπαυσης [Genitourinary Syndrome of Menopause (GSM)]»**. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε όπως και οι παράγοντες που εκτιμήθηκαν ώστε να διαμορφωθεί ο όρος GSM απεικονίζεται στην Εικόνα 4.

- 1. The Fundamentals of VVA: Physiology, Embryology, Differential Diagnosis, and Microbiology*
- 2. The Influencing Factors: Age, Menopause, Endocrine Factors, and Hormone Levels*
- 3. Consequences of VVA: I. Sexual Dysfunction*
- 4. Consequences of VVA: II. Urogynecologic Pelvic Support, Neurovascular, and Urinary Tract Issues*
- 5. Treatment Options: Current and Future*
- 6. The Patient's View: Patient Communication and Surveys*
- 7. Vulvar and Vaginal Anatomical Changes in Menopause*

**Εικόνα 4.** Διαδικασία που ακολουθήθηκε για την επιλογή του όρου «Ουρογεννητικό Σύνδρομο της Εμμηνόπαυσης [Genitourinary Syndrome of Menopause (GSM)]» [Portman et al. *Menopause* 2014 (Παραπομπή 21)]

## 2.2 Ορισμός

**Ουρογεννητικό σύνδρομο της εμμηνόπαυσης** ορίζεται μια πλειάδα συμπτωμάτων και κλινικών σημείων που σχετίζονται με την μείωση των οιστρογόνων και άλλων στεροειδών ορμονών που δημιουργούν αλλαγές στα μικρά και μεγάλα χείλη του αιδοίου, κλειτορίδα, προδομό και είσοδο του κόλπου, ουρήθρα και ουροδόχο κύστη [21]. Το σύνδρομο περιλαμβάνει αλλά δεν περιορίζεται στα συμπτώματα από το κατώτερο γεννητικό σύστημα όπως είναι η ξηρότητα, το αίσθημα καύσου και κνησμού. Περιλαμβάνει και συμπτώματα σχετιζόμενα με την σεξουαλική λειτουργικότητα των γυναικών όπως και συμπτώματα από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα. Συγκεκριμένα, τα σεξουαλικά συμπτώματα λόγω απουσίας εφύγρανσης κατά την σεξουαλική επαφή, η ενόχληση ή ο πόνος κατά την σεξουαλική επαφή, η κολπική αιμόρροια σχετιζόμενη με την σεξουαλική επαφή, η σεξουαλική δυσλειτουργία (όπως ελαττωμένη διέγερση, ικανότητας οργασμού και επιθυμίας), η συχνουρία, η έπείξη προς ούρηση και καύσος κατά την ούρηση είναι επίσης συμπτώματα του συνδρόμου [21].

Στα κλινικά σημεία του συνδρόμου περιλαμβάνεται η ελαττωμένη ελαστικότητα, ελαττωμένη υγρασία του κόλπου, απουσία κολπικών πτυχώσεων, ευθρηπτότητα του ιστού/εξελεκώσεις/πετέχειες, ωχρότητα/ερυθρότητα του κολπικού βλεννογόνου, υποστροφή των μικρών χειλέων του αιδοίου, εκτρόπιο ουρήθρας, εμπύθυνση της ουρήθρας στον κόλπο, πρόπτωση ουρήθρας, εξαφάνιση των μύρτων και υποτροπιάζουσες ουρολοιμώξεις. Οι γυναίκες μπορεί να έχουν κάποια ή και όλα τα συμπτώματα και κλινικά σημεία, τα οποία όμως πρέπει να τις ενοχλούν και να μην οφείλονται σε κάποια άλλη διάγνωση [21].

Η ορολογία ουρογεννητικό σύνδρομο της εμμηνόπαυσης συνεπώς είναι μια περιεκτική ορολογία που συμπεριλαμβάνει παλιότερες ορολογίες ως ξεχωριστές οντότητες του συνολικού συνδρόμου (όπως πχ η συμπτωματική αδοιοκολπική ατροφία και συμπτώματα του κατώτερου ουροποιητικού συστήματος) [21]. Επίσης, αντικαθιστά στενότερους όρους όταν γίνεται αναφορά στο σύνδρομο ως ολότητα [21].

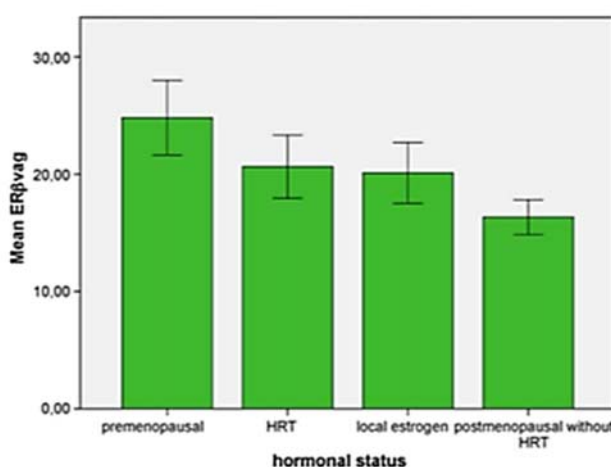
### **2.3 Παθοφυσιολογία**

Οι ιστοί που απαρτίζουν το ουρογεννητικό σύστημα είναι ορμονοεξαρτώμενοι και μεταβάλλονται σε συνάρτηση με τα επίπεδα των στεροειδών ορμονών. Είναι χαρακτηριστικό ότι το ουρογεννητικό σύστημα δημιουργείται και διατηρεί την λειτουργία του υπό την επίδραση των οιστρογόνων και ανδρογόνων, ενώ η σεξουαλική λειτουργία επηρεάζεται από τα επίπεδα οιστρογόνων, ανδρογόνων και προγεσταγόνων [22]. Υπάρχουν πάνω από 30000 γονίδια που ρυθμίζονται από την οιστραδιόλη και σχετίζονται με την διαδικασία της επιδιόρθωσης και αναδιαμόρφωσης του κολπικού ιστού μέσω της ρύθμισης του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της διαφοροποίησης, της απόπτωσης, της άμυνας έναντι των παθογόνων, της λειτουργίας του φραγμού, της φλεγμονής, του μεταβολισμού της εξωκυττάριας ουσίας, του οξειδωτικού στρες και της νεοαγγειογένεσης [23].

Επιπλέον, στο γεγονός ότι οι ιστοί του ουρογεννητικού συστήματος είναι ορμονοεξαρτώμενοι συνηγορεί η παρουσία οιστρογονικών (ER), ανδρογονικών (AR) και προγεστερονικών υποδοχέων (PR) στους ιστούς αυτούς [22]. Οι οιστρογονικοί υποδοχείς ανήκουν στην υπεροικογένεια των στεροειδικών πυρηνικών υποδοχέων μεταγραφικών παραγόντων που ενεργοποιούνται από συγκεκριμένες αλληλουχίες DNA που ονομάζονται «estrogen-responsive elements (ERE)» [24]. Κατά αντιστοιχία οι προγεστερονικοί και οι ανδρογονικοί υποδοχείς ανήκουν στην οικογένεια των μεταγραφικών παραγόντων που επίσης ενεργοποιούνται από μόρια [25].

Τόσο οι οιστρογονικοί όσο και οι προγεστερονικοί υποδοχείς διακρίνονται σε α και β (ERα, ERβ, PRα, PRβ) με τον καθένα να έχει διαφορετική εντόπιση στους ιστούς [25]. Οι οιστρογονικοί υποδοχείς τύπου α ανευρίσκονται κυρίως στους μαστούς, στα νεφρά, στο ενδομήτριο, στις ωθήκες και στον κόλπο, ενώ οι οιστρογονικοί υποδοχείς τύπου β στον εγκέφαλο, στις ωθήκες, στην ουροδόχο κύστη, στο ενδοθήλιο των αγγείων, στους λείους μύες, στο ανοσοποιητικό σύστημα και στους πνεύμονες [25, 26]. Άλλα σημεία που έχουν ανευρεθεί οιστρογονικοί υποδοχείς είναι η ουρήθρα, ο σφιγκτήρας της ουρήθρας, το περιουρηθρικό αγγειακό πλέγμα, οι πυελικοί στηρικτικοί ιστοί, η κλειτορίδα, τα χείλη του αιδοίου και ο πρόδομος του κόλπου [22, 25]. Έχει παρατηρηθεί ότι σε εμμηνόπαυσιαικές γυναίκες με κολπική ατροφία οι οιστρογονικοί υποδοχείς τύπου β στον κόλπο είναι σημαντικά μειωμένοι σε σύγκριση με προεμμηνόπαυσιαικές γυναίκες [24, 25]. Αντιθέτως, σε μετεμμηνόπαυσιαικές γυναίκες που λαμβάνουν ορμονική θεραπεία (από το στόμα ή τοπική) τα επίπεδα των οιστρογονικών υποδοχέων τύπου β παραμένουν ψηλά (Σχεδιάγραμμα 3α) [25].

α)

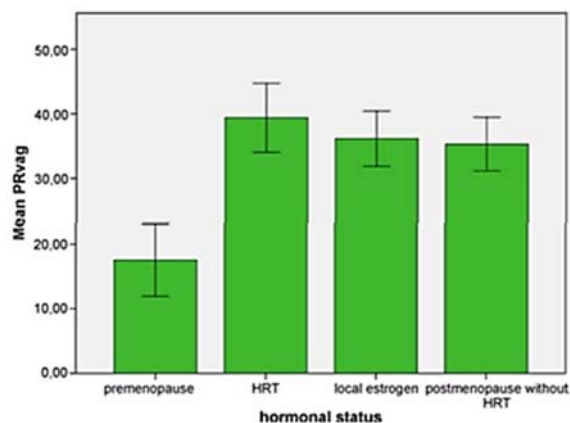


**Σχεδιάγραμμα 3α.** Συγκέντρωση οιστρογονικών υποδοχέων τύπου β στον κολπικό ιστό πριν την εμμηνόπαυση και μετά την εμμηνόπαυση με ή χωρίς χορήγηση ορμονικής θεραπείας. [Skala et al. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010 (Παραπομπή [25]).

Οι προγεστερονικοί υποδοχείς ανευρίσκονται κυρίως στο στρώμα του κολπικού βλεννογόνου και σε μικρότερο ποσοστό στο τρίγωνο της ουρήθρας [25]. Μάλιστα, σε αντίθεση με τους οιστρογονικούς υποδοχείς τύπου β, οι προγεστερονικοί υποδοχείς

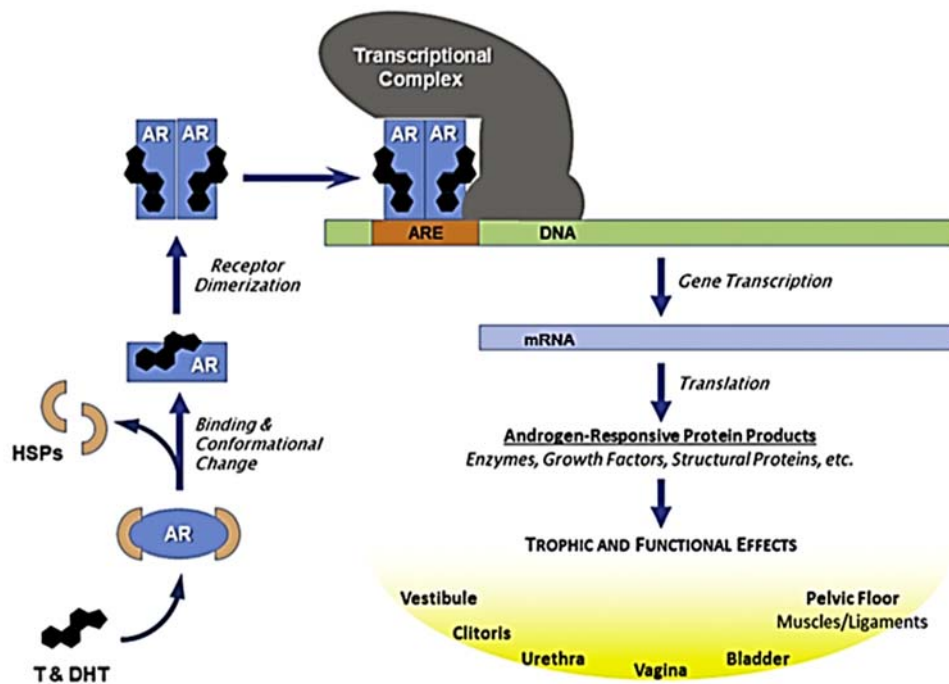
εμφανίζονται αυξημένοι στον κολπικό ιστό μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών σε σύγκριση με προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Σχεδιάγραμμα 3β) [25].

β)



**Σχεδιάγραμμα 3β.** Συγκέντρωση προγεστερονικών υποδοχέων στον κολπικό ιστό πριν την εμμηνόπαυση και μετά την εμμηνόπαυση με ή χωρίς χορήγηση ορμονικής θεραπείας. [Skala et al. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010 (Παραπομπή [25]).

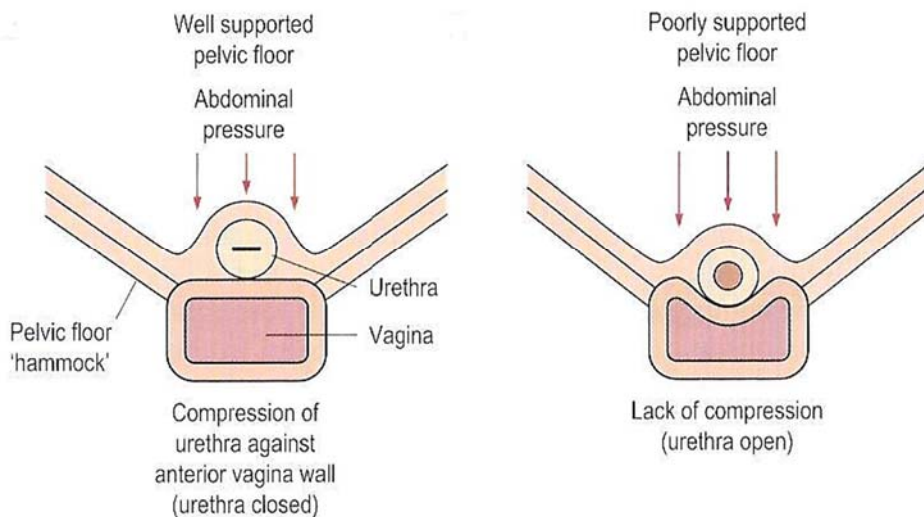
Οι ανδρογονικοί υποδοχείς ανευρίσκονται στον βλεννογόνο και στο στρώμα του κόλπου, στους λείους μύες και στο ενδοθήλιο των αγγείων του κόλπου, στην ουροδόχο κύστη, στην ουρήθρα, στην κλειτορίδα, στα χείλη του αιδοίου, στον πρόδομο του κόλπου και στους πυελικούς μυς [22]. Σύνδεση των ανδρογόνων με τους υποδοχείς έχει σαν αποτέλεσμα την διάσπαση των Heat Shock Proteins (HSPs), διαμορφωτική αλλαγή στους υποδοχείς και διμερισμό αυτών [22]. Στην εικόνα 5 παρουσιάζεται το μονοπάτι κατά το οποίο επιδρούν τα ανδρογόνα στο ουρογεννητικό σύστημα [22].



**Εικόνα 5.** Το μονοπάτι επίδρασης των ανδρογόνων μέσω της σύνδεσης τους στους AR στους ιστούς του ουρογεννητικού συστήματος [Traish et al. *Aex Med Rev* 2018 (Παραπομπή 22)].

Σημαντική μείωση των οιστρογόνων ή/και ανδρογόνων ή μεταβολές στην έκφραση των οιστρογονικών ή/και ανδρογονικών υποδοχών επηρεάζουν αρνητικά την ισορροπία της σύνθεσης και αποδόμησης του κολλαγόνου [22]. Το κολλαγόνο από την άλλη παίζει σημαντικό ρόλο στην στήριξη των πυελικών οργάνων. Η πτώση των στεροειδών ορμονών μεταβάλλει την λειτουργικότητα του κολλαγόνου, συντελεί στην απώλεια της ελαστικότητας της πυελικής περιτονίας που την καθιστά ευένοδη σε μη αντιστρεπτές βλάβες και ταυτόχρονα ελαττώνει την περιεκτικότητα του συνδετικού ιστού σε προϊόντα υδροξυπρολίνης. Αυτές οι μεταβολές παίζουν σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση ακράτειας ούρων (Εικόνα 6) [23, 24].





α)

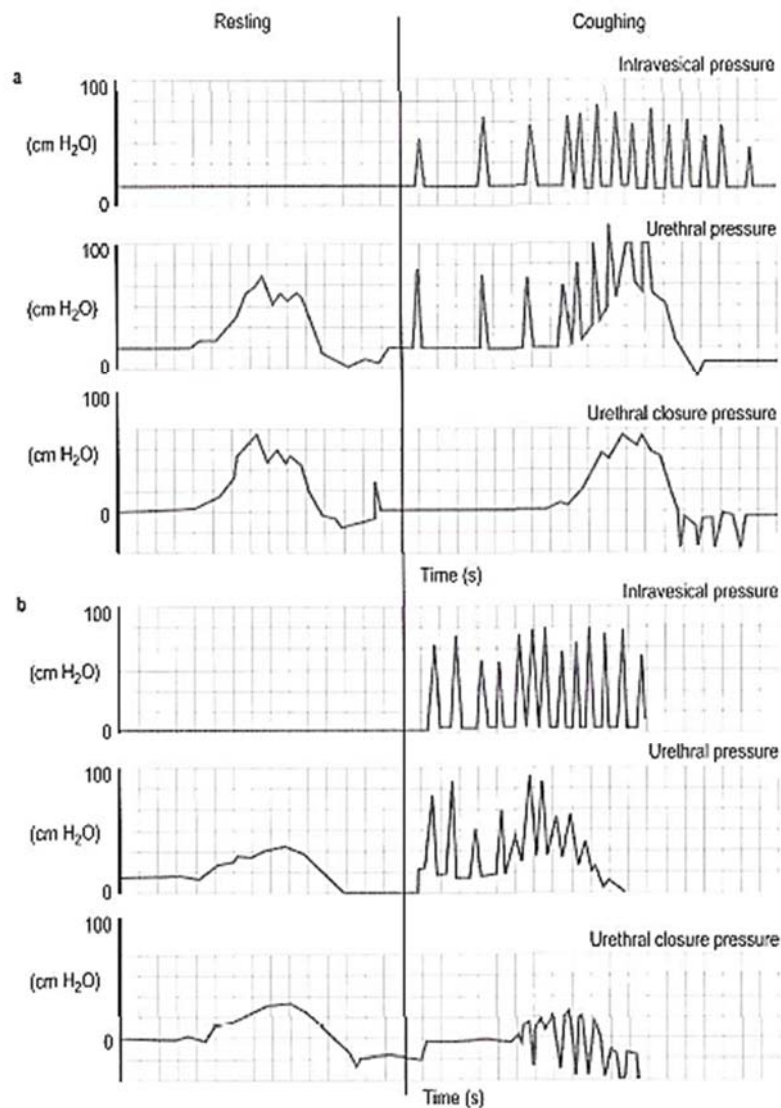
β)

**Εικόνα 6.** Αντίδραση της ουρήθρας σε αύξηση της ενδοκοιλιακής πίεσης όταν α) υπάρχει ή β) δεν υπάρχει καλή στήριξη του πυελικού τοιχώματος. [Chapple et al. Urodynamics Made Easy, 3<sup>rd</sup> Edition, 2009

(Παραπομπή 24)]

Ο γενικότερος όμως τρόπος που δρουν οι στεροειδείς ορμόνες στον μηχανισμό της ούρησης είναι πολύπλοκος [23]. Τα οιστρογόνα φαίνεται ότι επιδρούν στο κεντρικό νευρικό σύστημα μέσω των υποδοχέων που υπάρχουν στον εγκεφαλικό φλοιό, μεταχίμαικό σύστημα του εγκεφάλου, ιππόκαμπος και παρεγκεφαλίδα, ελέγχοντας έτσι τον μηχανισμό της ούρησης. Επίσης, επιδρούν άμεσα στην λειτουργία του εξωστήρα της ουρήθρας με τους κάτωθι μηχανισμούς; (i) αυξάνουν την ευαισθησία των α αδρενεργικών υποδοχέων των λείων μυών, (ii) προάγουν την δράση των β3 αδρενεργικών υποδοχέων ώστε να επιτυγχάνεται η χαλάρωση της ουρήθρας και να ελαττώνεται η ακούσια ρυθμική σύσπαση του εξωστήρα, (iii) προάγουν την μεταφορά του εξωκυττάριου ασβεστίου στα μυϊκά κύτταρα και (iv) αυξάνουν το όριο αισθητικότητας της ουροδόχου κύστεως. Περαιτέρω, τα οιστρογόνα αυξάνουν την πίεση σύγκλισης της ουρήθρας, την αντίσταση της ουρήθρας όπως και την μετάδοση της πίεσης στην εγγύς ουρήθρα, μηχανισμός σημαντικός για την επίτευξη της εγκράτειας των ούρων.

Κατά την προφίλομετρία της ουρηθρικής πίεσης εμφανίζονται παλμοί, δευτερογενώς της αυξημένης ροής αίματος στον βλεννογόνο της ουρήθρας και στον σφιγκτήρα μυ. Σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες οι παλμοί αυτοί έχει βρεθεί ότι αυξάνονται σε μέγεθος μετά από την χορήγηση ορμονικής θεραπείας, ενώ ελαττώνονται με την διακοπή αυτής. Στην εικόνα 7 απεικονίζεται η προφίλομετρία πίεσης ουρήθρας σε φυσιολογική γυναίκα και σε γυναίκα με ακράτεια ούρων από προσπάθεια [24].



**Εικόνα 7.** Προφίλομετρία πίεσης σε a) φυσιολογική γυναίκα χωρίς ακράτεια και b) σε γυναίκα με ακράτεια από προσπάθεια. [Chapple et al. Urodynamics Made Easy, 3<sup>rd</sup> Edition, 2009 (Παραπομπή 24)]

Εκτός από τα οιστρογόνα και η γήρανση των ιστών παίζει σημαντικό ρόλο στον μηχανισμό της εγκράτειας των ούρων με την λειτουργικότητα της ουροδόχου κύστης και της ουρήθρας να γίνεται λιγότερο αποτελεσματική όσο αυξάνεται η ηλικία [23]. Έτσι, στις μεγαλύτερες γυναίκες μπορεί να παρατηρηθεί αύξηση της ποσότητας υπολείμματος των ούρων, ελάττωση της ταχύτητας ροής των ούρων κατά την ούρηση, ελάττωση της χωρητικότητας της κύστης όπως και ελάττωση της μέγιστη πίεσης ούρησης.

### 2.3.1 Αλλαγές στο Ουρογεννητικό Σύστημα

Τα χαμηλά επίπεδα στεροειδών ορμονών σε συνδυασμό με την γήρανση των ιστών δημιουργούν αλλαγές στους ορμονοεξαρτώμενους ιστούς του ουρογεννητικού συστήματος σε επίπεδο τόσο ανατομικής και παθολογοανατομικής εικόνας όσο και σε επίπεδο φυσιολογίας και βιολογίας [21].

#### 2.3.1.1 Αλλαγές στο κατώτερο γεννητικό σύστημα

Ανατομικές αλλαγές από το κατώτερο γεννητικό σύστημα σχετιζόμενες με την εμμηνόπαυση περιλαμβάνουν τη λέπτυνση και υποστροφή των μικρών χειλέων του αιδοίου, στένωση της εισόδου του κόλπου με πιθανή εμβύθυνση της ουρήθρας που την καθιστά ευάλωτη σε τραυματισμούς και ερεθισμούς, την στένωση του μήκους του κόλπου και μείωση της ελαστικότητας του αδοιοκολπικού ιστού. Όλα τα παραπάνω συντελούν στην εμφάνιση δυσπαρευνίας κατά την διείσδυση, απουσία των κολπικών πτυχώσεων όπως και τροποποίηση της εικόνας και λειτουργικότητας των λείων μυϊκών ινών (Εικόνα 7) [9, 21, 29 - 31]. Επίσης, ο κολπικός βλεννογόνος εμφανίζεται ωχρός, χωρίς παρουσία υγρασίας και εύθρυπτος ή σε σοβαρότερες μορφές ατροφίας ερυθρός με ή χωρίς παρουσία παθολογικών ερεθιστικών υγρών [9, 21, 29 - 32].



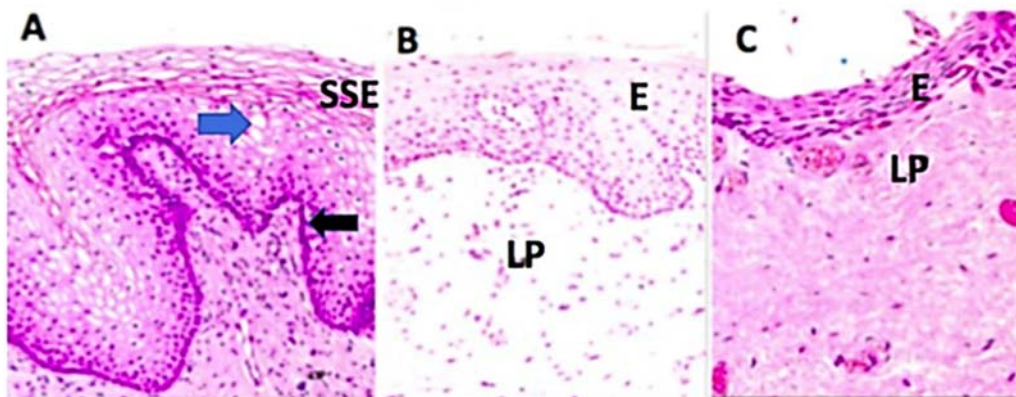
**Εικόνα 7.** Κλινική εικόνα μετεμμηνοπαυσιακής γυναίκας με GSM [Bachmann & Nevadunsky. *Am Fam Physician* 2000) Παραπομπή 29)].

Ιστολογικά το κολπικό τοίχωμα αποτελείται από 4 στιβάδες [26]. Η πρώτη στιβάδα είναι το επιφανειακό μη κερατινοποιημένο πλακώδες επιθήλιο το οποίο χωρίζεται από το δεύτερο με τη βασική μεμβράνη. Η δεύτερο στιβάδα είναι το χόριο (lamina propria), ένα λεπτό

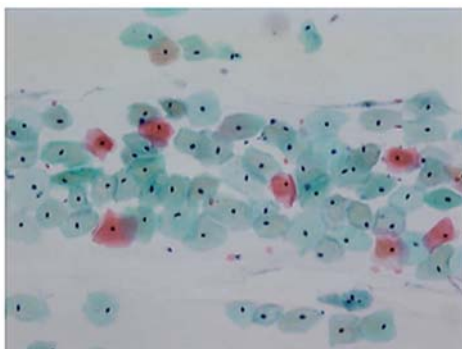
στρώμα από συνδετικό που βρίσκεται κάτω από το επιθήλιο και μαζί με το επιθήλιο αποτελούν τον κολπικό βλεννογόνο. Το χόριο μπορεί επίσης να περιέχει ινοβλάστες, λεμφοκύτταρα, μακροφάγα, λευκοκύτταρα, αγγεία και νεύρα, ενώ δημιουργεί θηλές οι οποίες διεισδύουν στο επιθήλιο παρέχοντας την απαραίτητη αιμάτωση και τις θρεπτικές ουσίες. Η τρίτη στιβάδα αποτελείται από λείες μυϊκές ίνες που εσωτερικά είναι κυκλωτερείς και εξωτερικά επιμήκεις. Η τέταρτη στιβάδα αποτελείται από κολλαγόνο, χαλαρό συνδετικό ιστό και ελαστικές ίνες που λειτουργούν στηρικτικά στο κολπικό τοίχωμα παρέχοντας μηχανική αντοχή και ελαστικότητα. Μάλιστα, η ανθεκτικότητα του κολπικού ιστού εξαρτάται από τον τύπο του κολλαγόνου. Το κολλαγόνο τύπου I δημιουργεί μεγάλες και ανθεκτικές ίνες, το τύπου III μικρότερες με λιγότερη ανθεκτικότητα, ενώ το τύπου V μικρές ίνες με πολύ μικρή αντοχή.

Το επιθήλιο των γυναικών σε αναπαραγωγική ηλικία είναι μη κερατινοποιημένο, πλούσιο σε γλυκογόνο, αγγεία, νεύρα, συνδετικό ιστό και ελασίνη με την βασική μεμβράνη να αποτελείται από μια σειρά κυττάρων σαν στήλη όπως αναφέρθηκε ανωτέρω [26]. Κατά την ατροφία όμως το επιθήλιο γίνεται πιο λεπτό με σημαντική μείωση γλυκογόνου, αγγείων, νεύρων, ελασίνης και θηλών [26]. Κατά συνέπεια, οι απαραίτητες δομές και θρεπτικά συστατικά που συνδράμουν στην υγεία του κολπικού ιστού μειώνονται σημαντικά. Η μείωση της αντοχής του κολπικού ιστού και η αύξηση της ευθρυπτότητας του μπορούν να προδιαθέσουν σε βλάβη του κολπικού επιθηλίου κατά την σεξουαλική επαφή με συνέπεια την εμφάνιση συμπτωμάτων όπως κολπικός πόνος, αίσθημα καύσου, ερεθισμού, κνησμού και κολπικής αιμόρροιας μετά την επαφή [9, 22]. Στην Εικόνα 7 απεικονίζεται ιστολογική εικόνα φυσιολογικού (οιστρογονοποιημένου), μετρίως και σοβαρά ατροφικού επιθηλίου.

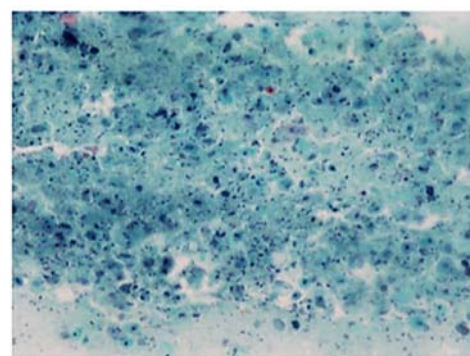
Στην κυτταρολογική εξέταση κατά Παπανικολάου το επιθήλιο παρουσιάζει επιφανειακά, ενδιάμεσα και παραβασικά κύτταρα. Στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες το ποσοστό των επιφανειακών κυττάρων είναι πάνω από 15% [9]. Τα επιφανειακά κύτταρα έχουν μεγάλο κυτταρόπλασμα και είναι πλούσια σε γλυκογόνο. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα ο λόγος πυρήνας προς κυτταρόπλασμα να είναι μικρός (Εικόνα 9α) [26]. Στο κολπικό επιθήλιο μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών το τυπικό ποσοστό των επιφανειακών κυττάρων είναι μικρότερο του 5% [9]. Τα πλακώδη κύτταρα είναι συνεπώς κυρίως ανώριμα (παραβασικά) με μεγάλο πυρήνα και χωρίς παρουσία γλυκογόνου (Εικόνα 9β) [26].



**Εικόνα 8.** Ιστολογική εικόνα α) φυσιολογικού, β) μετρίως ατροφικού και γ) σοβαρά ατροφικού κολπικού ιστού. SSE: Μη κερατινοποιημένο πλακώδες επιθήλιο, E: Επιθήλιο, LP: Χόριο [Tadir et al. *Lasers Surg Med* 2017 (Παραπομπή 26)].



α)



β)

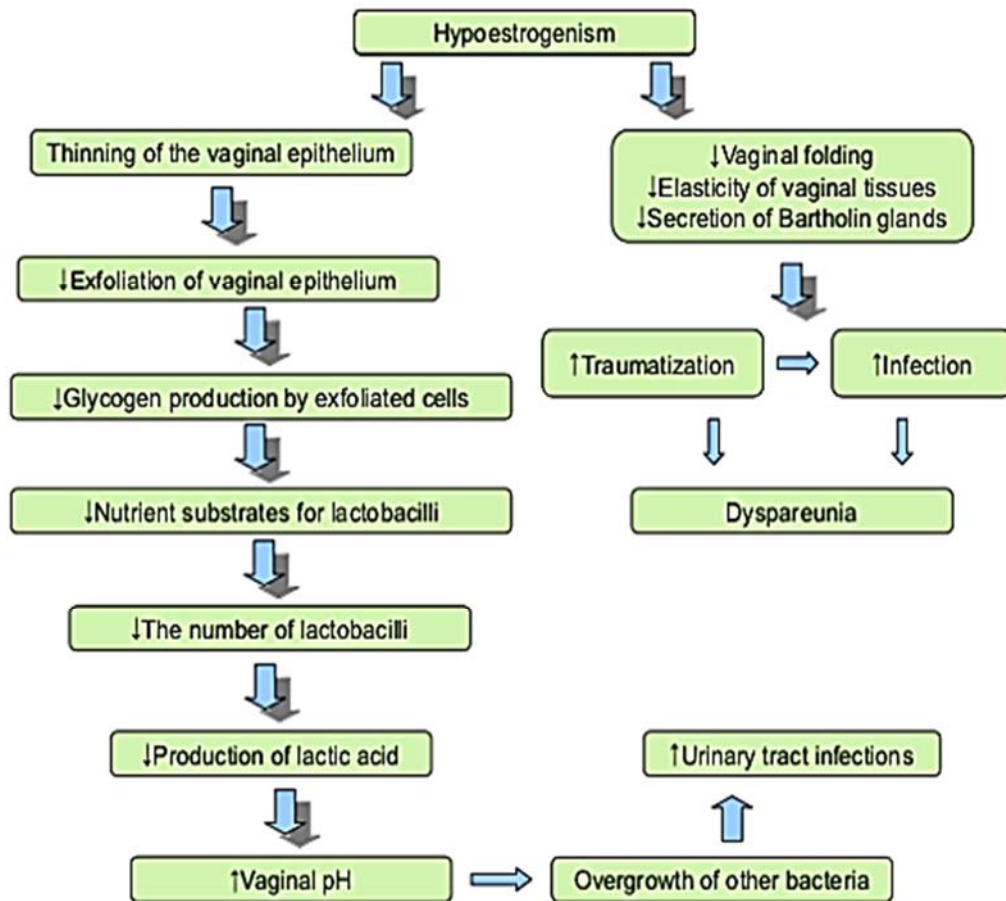
**Εικόνα 9.** Κυτταρολογική εικόνα του κολπικού επιθηλίου με εξέταση κατά Παπανικολάου α) φυσιολογικό (ώριμο) επιθήλιο, β) ατροφικό (ανώριμο) επιθήλιο. [MacBride et al. *Mayo Clin Proc* 2010 (Παραπομπή 9)].

Η λέπτυνση του κολπικού επιθηλίου με την μείωση των επιφανειακών κυττάρων έχει σαν αποτέλεσμα την μείωση της απόπτωσης κυττάρων και μείωση της απελευθέρωσης γλυκογόνου από τα αποπίπτοντα κύτταρα [33]. Το ελεύθερο γλυκογόνο κατά την προεμμηνόπαυσιακή κατάσταση διασπάται σε γλυκόζη υπό την επίδραση συγκεκριμένων ενζύμων παρέχοντας στους γαλακτοβακίλλους τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για να αναπτυχθούν [33].

Οι γαλακτοβάκιλλοι παίζουν πρωταγωνιστικό ρόλο στην διατήρηση ενός υγιούς κολπικού οικοσυστήματος [9, 18, 34 - 37]. Καταρχήν, έχουν την δυνατότητα να δημιουργούν μια δυναμική ισορροπία στην χλωρίδα του κόλπου δρώντας ανταγωνιστικά στην υπερανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών (π.χ *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis*, enterococci, group B streptococci, *Escherichia coli*) που σχετίζονται με κολπίτιδες ή ουρολοιμώξεις [29, 38, 39]. Επιπλέον, κατά την διάσπαση των θρεπτικών τους ουσιών παράγουν γαλακτικό οξύ και υπεροξειδίο του οξυγόνου συντελώντας στην διατήρηση του pH του κολπικού υγρού σε περισσότερα όξινα επίπεδα ( $pH < 4.5$ ) προστατεύοντας έτσι με ένα δεύτερο μηχανισμό από την υπερανάπτυξη των παθογόνων [34 - 37].

Κατά την εμμηνόπαυση η σημαντική μείωση ή και πλήρη απουσία του γλυκογόνου έχει σαν αποτέλεσμα την μείωση ή και εξαφάνιση των γαλακτοβακίλλων, την αύξηση του pH του κολπικού υγρού σε επίπεδα  $>4.5$  και την απώλεια της προστασίας του κόλπου από παθογόνα μικρόβια και φλεγμονές [9, 18]. Έχει βρεθεί ότι σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που δεν λαμβάνουν ορμονική θεραπεία το ποσοστό επικράτησης των γαλακτοβακίλλων κυμαίνεται από 20% έως 49%, ενώ των παθογόνων μικροβίων μπορεί να φτάνει έως και το 58% [40]. Μάλιστα, επί παρουσίας υποκείμενης παθολογίας, όπως είναι για παράδειγμα ο ινσουλινοεξαρτώμενος σακχαρώδης διαβήτης, η επικράτηση του *E. Coli* μπορεί να φτάσει το 62% [41]. Ο αποικισμός όμως του κολπικού υγρού με παθογόνα εντεροβακτήρια είναι θεμελιώδης για την εμφάνιση ουρολοιμώξεων τόσο ως μεμονωμένου γεγονότος όσο και ως υποτροπιάζοντων επεισοδίων [39].

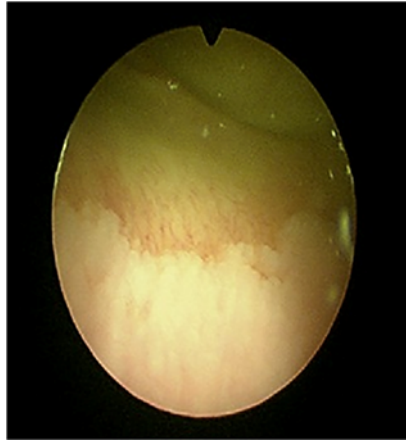
Συνοψίζοντας τα παραπάνω στο Σχεδιάγραμμα 4 απεικονίζεται το μοντέλο κατά το οποίο τα χαμηλά επίπεδα οιστρογόνων συντελούν στην αύξηση του pH του κολπικού υγρού, την ανάπτυξη ουρολοιμώξεων αλλά και στον τραυματισμό του κολπικού επιθήλιου.



**Σχεδιάγραμμα 4.** Επίδραση της εμμηνόπαυσης στο κολπικό επιθήλιο και στην κολπική χλωρίδα. [Naumova &Castelo-Branco *Int J Womens Health* 2018 (Παραπομπή 33)]

### 2.3.1.2 Αλλαγές από το κατώτερο Ουροποιητικό Σύστημα

Στις ανατομικές αλλαγές από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα περιλαμβάνονται η πρόπτωση ουρήθρας, η εμβύθυνση της ουρήθρας στον κόλπο που την καθιστά ευάλωτη σε τραυματισμού και ερεθισμούς, το εκτρόπιο ουρήθρας και η κυστεοκήλη [31]. Κατά την κυστεοσκόπηση της ουροδόχου κύστης εμμηνοπαυσιακών γυναικών αναδεικνύεται μικρότερο μήκος ουρήθρας σε σύγκριση με γυναίκες σε προεμμηνοπαυσιακή φάση, πλακώδης μετάπλαση του τριγώνου της ουροδόχου κύστης (Εικόνα 10) όπως και μείωση της αγγείωσης και κατ'επέκταση της αιμάτωσης αυτής [31, 42]. Αυτό έχει ως συνέπεια ο βλεννογόνος της κύστης και της ουρήθρας να εμφανίζεται συχνά ωχρός ή ισχαιμικός [31].



**Εικόνα 10.** Κυστεοσκοπική εικόνα πλακώδους μετάπλασης ουροδόχου κύστεως (Jurkiewicz & Zabkowski. *Biomed Res Int* 2014 (Παραπομπή 42))

### 2.3.2 Προδιαθεσικοί παράγοντες

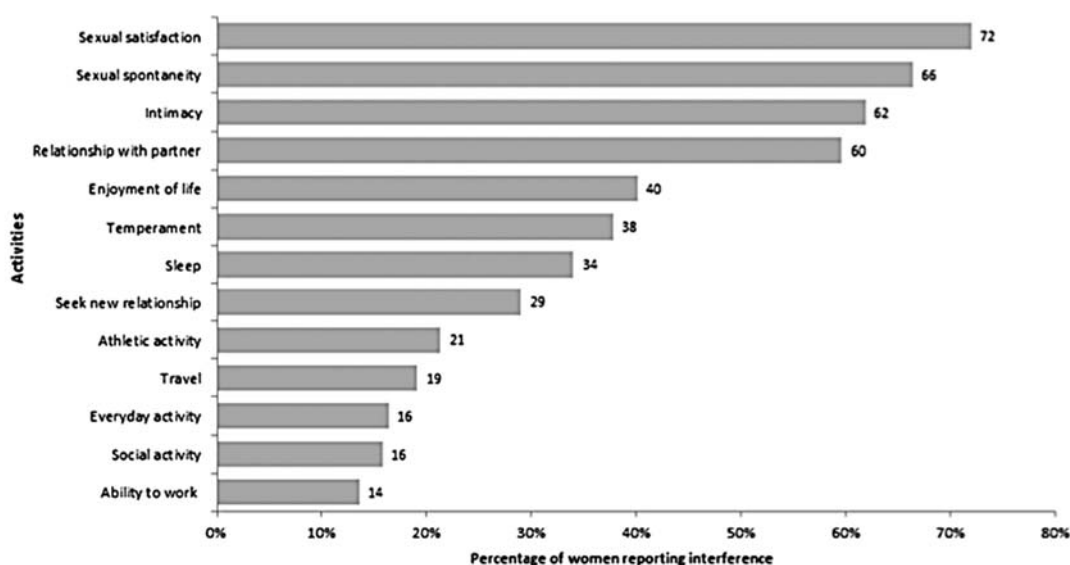
Στους προδιαθεσικούς παράγοντες εμφάνισης του ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης περιλαμβάνονται η εμμηνόπαυση, η αμφοτερόπλευρη εξαρτηματεκτομή, το κάπνισμα, η κατάχρηση αλκοόλ, η μειωμένη συχνότητα σεξουαλικών επαφών και η σεξουαλική αποχή, η ωοθηκική ανεπάρκεια, η καθιστική ζωή, η απουσία κολπικού τοκετού και η παρουσία ουρογυναικολογικής πάθησης (ακράτεια ούρων εκ προσπάθειας, μικτού τύπου ακράτεια, υπερδραστήρια κύστη και πρόπτωση πυελικών οργάνων) [31, 43]. Ειδικά όσον αφορά την παρουσία ουρογυναικολογικής πάθησης η πιθανότητα εμφάνισης ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης σε αυτήν την ομάδα γυναικών αυξάνεται από 3 έως και 18 φορές σε σύγκριση με γυναίκες χωρίς κάποια ουρογυναικολογική πάθηση στο ιστορικό τους [43]. Η συσχέτιση του καπνίσματος με το ουρογεννητικό σύνδρομο της εμμηνόπαυσης έγκειται στην μείωση της αιματικής ροής και την μεταβολή της λειτουργικότητας των στεροειδικών υποδοχέων [31].

### 2.4 Συμπτώματα, Σεξουαλική Υγεία και Ποιότητα Ζωής

Τα συμπτώματα που σχετίζονται με την ατροφία του ουρογεννητικού συστήματος λόγω εμμηνόπαυσης είναι χρόνια, σταθερά επιδεινούμενα και εμφανίζονται σε ποσοστό έως και 57% των εμμηνοπαυσιακών γυναικών [9, 21, 44, 45]. Το πιο συχνό σύμπτωμα του ουρογεννητικού συνδρόμου είναι η κολπική ξηρότητα, η επίπτωση του οποίου αυξάνεται ανάλογα με την φάση κατά STRAW + 10 που βρίσκονται οι γυναίκες. Έτσι, η επίπτωση της κολπικής ξηρότητας στον γενικό πληθυσμό ξεκινάει από 4% κατά την φάση μετάβασης στην



εμμηνόπαυση και ανέρχεται σε 25% και 47% 1 και 3 χρόνια μετά την φάση μηδέν, αντιστοίχως [46]. Τα πιο συχνά συμπτώματα που εμφανίζονται σε γυναίκες με κολπική ενόχληση λόγω ατροφίας είναι η ξηρότητα και η δυσπαρευνία με ποσοστά 83% - 93% και 42% - 82%, αντιστοίχως [43, 47]. Έως και το 68% αυτών των γυναικών βιώνουν τα συμπτώματα με μέτρια έως και σοβαρή ένταση [43, 48]. Η παρουσία όμως ατροφίας στο ουρογεννητικό σύστημα επηρεάζει αρνητικά την σεξουαλική υγεία, καθημερινότητα και γενικότερα ποιότητα ζωής των γυναικών. Στο σχεδιάγραμμα 5 απεικονίζεται το ποσοστό στο οποίο η αιδοιοκολπική ατροφία παρεμβαίνει στις καθημερινές δραστηριότητες και στην σεξουαλική ζωή των γυναικών όπως αυτό προκύπτει από μεγάλη Ευρωπαϊκή μελέτη [49].



**Σχεδιάγραμμα 5.** Στοιχεία παρέμβασης της αιδοιοκολπικής ατροφίας στην καθημερινότητα και σεξουαλική ζωή των γυναικών [Nappi et al. *Climacteric* 2016 (παραπομπή 49)].

Σύμφωνα με μελέτες έχουν υπολογίζεται ότι η αιδοιοκολπική ατροφία μπορεί να αυξήσει κατά 4 φορές την πιθανότητα εμφάνισης σεξουαλικής δυσλειτουργίας. Συγκεκριμένα, οι γυναίκες με αιδοιοκολπική ατροφία μπορεί να βιώνουν σεξουαλική δυσλειτουργία, απουσία επιθυμίας, δυσκολίες διέγερσης και δυσκολίες επίτευξης οργασμού έως και 40%, 24%, 34% και 19%, αντιστοίχως [50, 51]. Επιδημιολογική μελέτη της εμμηνόπαυσης το 64% των γυναικών με αιδοιοκολπική ατροφία ανέφεραν πόνο κατά την επαφή, το 64% μείωση της «libido», ενώ το 58% απέφευγε να έχει οικειότητα [51].

Όπως προαναφέρθηκε στο ουρογεννητικό σύνδρομο της εμμηνόπαυσης συμπεριλαμβάνονται και συμπτώματα από το κατώτερο ουροποιητικό όπως συχνουρία,

νυχτουρία, δυσουρία, ουρολοιμώξεις, έπειξη προς ούρηση και ακράτεια ούρων [31, 48, 52-55]. Το ποσοστό εμφάνισης συχνουρίας και έπειξης προς ούρηση κυμαίνεται από 15% έως 35%, ενώ το 66% αυτών των γυναικών βιώνουν μέτριας έως και σοβαρής έντασης συμπτωματολογία [43, 52 - 54]. Έχει επίσης παρατηρηθεί ότι οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με ατροφία του ουρογεννητικού συστήματος εμφανίζουν προδιάθεση ανάπτυξης ουρολοιμώξεων όχι μόνο ως μεμονωμένα περιστατικά αλλά και ως υποτροπιάζοντα επεισόδια, με ποσοστό που κυμαίνεται από 5% έως και 17% [48, 53, 55, 56]. Η επίπτωση της ασυμπτωματικής βακτηριουρίας στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες αγγίζει το 20%, με πιο πιθανή αιτιολογία το αυξημένο υπόλειμμα ούρων και την παρατετατεμένη διάρκεια ούρησης.

Η παρουσία συμπτωμάτων από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης επώδυνων σεξουαλικών διαταραχών κατά 7 φορές και τις διαταραχές σεξουαλικής διέγερσης κατά 4 φορές [57]. Μάλιστα, τα συμπτώματα από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα μπορεί να συντελέσουν στην σεξουαλική αποχή. Έχει βρεθεί ότι υπάρχει 3 με 6 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα σεξουαλικής αποχής σε γυναίκες με παρουσία συμπτωμάτων από το κατώτερο ουροποιητικό σε σύγκριση με γυναίκες σεξουαλικά δραστήριες [58]. Τέλος, η πιθανότητα εμφάνισης «de novo» συμπτωμάτων από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα αυξάνεται σε γυναίκες που διακόπτουν τις σεξουαλικές επαφές, ενώ η επανέναρξη των σεξουαλικών επαφών μπορεί να συντελέσει σε σχετική ελάττωση τους [58, 59].

Δύο χρόνια μετά το συνέδριο των ISSWH και NAMS μια ομάδα έμπειρων επιστημόνων μετά από ανασκόπηση της βιβλιογραφίας όσον αφορά την φυσιολογία, αιτιολογία, κλινική σημειολογία, κλινική συμπτωματολογία και επιπλοκών του ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης συγκέντρωσαν και συνόψισαν όλα τα συμπτώματα, κλινικά σημεία και επιπλοκές του ουρογεννητικού συνδρόμου στον πίνακα που ακολουθεί (Εικόνα 11) [31], ο οποίος αναδημοσιεύτηκε το 2018 από την ISSWSH [60].

### External genital, urological, and sexual manifestations of genitourinary syndrome of menopause

External genital		Urological		Sexual
Signs and symptoms	Complications	Signs and symptoms	Complications	Signs and symptoms
Vaginal/pelvic pain and pressure	Labial atrophy	Frequency	Ischemia of vesical trigone	Loss of libido
Dryness	Vulvar atrophy and lesions	Urgency	Meatal stenosis	Loss of arousal
Irritation/burning	Atrophy of Bartholin glands	Postvoid dribbling	Cystocele and rectocele	Lack of lubrication
Tenderness	Intravaginal retraction of urethra	Nocturia	Urethral prolapse	Dyspareunia
Pruritus vulvae	Alkaline pH (5–7)	Stress/urgency incontinence	Urethral atrophy	Dysorgasmia
Decreased turgor and elasticity	Reduced vaginal and cervical secretions	Dysuria	Retraction of urethral meatus inside vagina associated with vaginal voiding	Pelvic pain
Suprapubic pain	Pelvic organ prolapse	Hematuria	Uterine prolapse	Bleeding or spotting during intercourse
Leukorrhea	Vaginal vault prolapse	Recurrent urinary tract infection	Urethral polyp or caruncle	
Ecchymosis	Vaginal stenosis and shortening			
Erythema	Introital stenosis			
Thinning/graying pubic hair				
Thinning/pallor of vaginal epithelium				
Pale vaginal mucous membrane				
Fusion of labia minora				
Labial shrinking				
Leukoplakic patches on vaginal mucosa				
Presence of petechiae				
Fewer vaginal rugae				
Increased vaginal friability				

**Εικόνα 11.** Κλινικά σημεία, συμπτώματα και επιπλοκές από το ουρογεννητικό σύστημα κατά την εμμηνόπαυση [Gadhi et al. *Am J Obstet Gynecol* 2016 (Παραπομπή 31)].

## 2.5 Διάγνωση

Η διάγνωση του ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης είναι κλινική βασιζόμενη στην λήψη ιστορικού και στην κλινική εξέταση [21, 31, 61]. Όσον αφορά το ιατρικό ιστορικό είναι σημαντικό να αναζητηθούν τα κάτωθι: 1) Παρουσία εμμηνόπαυσης με όλα τα στοιχεία που αναφέρθηκαν στο κεφάλαιο 1. Πιθανή χρήση αντιοιστρογόνων ή ιστορικό εξαρτηματεκτομής, ακτινο- ή χημειο-θεραπείας θα πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψη γιατί αυξάνει την πιθανότητα εμφάνισης συμπτωμάτων που προσομοιάζουν εκείνων του ουρογεννητικού συνδρόμου ειδικά σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας. 2) Προδιαθεσικοί παράγοντες ουρογεννητικού συνδρόμου. 3) Πιθανή παρουσία υποκείμενης νόσου. 5) Πιθανή χρήση ερεθιστικών προϊόντων για την ουρογεννητική περιοχή (πχ σαπούνια, χρήση μάκτρων, κρέμες, πούδρα κλπ). 4) Τρόπος έναρξης, χρονικό διάστημα και ένταση των συμπτωμάτων όπως και η επίδραση τους στην ποιότητα ζωής και σεξουαλικής υγείας των γυναικών. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με την χρήση ειδικών ερωτηματολογίων αναγνώρισης παρουσίας και επιπέδου ενόχλησης κάθε οντότητας του συνδρόμου, ποιότητας ζωής και σεξουαλικής υγείας. 5) Η αναζήτηση του συμπτώματος που θεωρεί η γυναίκα πιο σημαντικό και ενοχλητικό, ποιοι είναι οι στόχοι της από την θεραπεία που αναζητά και τι περιμένει να συμβεί μετά την θεραπεία, ώστε να μπορέσει να επιτευχθεί κατάλληλη ενημέρωση για την πάθηση της, και εξατομίκευση της θεραπευτικής της αντιμετώπισης.

Από τους θεμελιώδους λίθους διάγνωσης του ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης είναι η κλινική εξέταση γενικότερα και ειδικότερα του πυελικού εδάφους [31, 61]. Στον ορισμό του συνδρόμου περιγράφονται όλα τα κλινικά σημεία που πρέπει να αναζητούνται για να μπορέσει να τεθεί η διάγνωση. Από τα πιο συχνά κλινικά σημεία αποτελούν η ελαττωμένη ενυδάτωση του ιστού, η απώλεια των κολπικών πτυχώσεων, η ωχρότητα του βλεννογόνου και η μείωση της ελαστικότητας του αιδοιοκολπικού ιστού με ποσοστά 94%, 78%, 75% και 69%, αντιστοίχως [43]. Η ευθρυπτότητα/εξέλκωση/πετέχειες, απουσία των μύρτων, υποστροφή των μικρών χειλέων του αιδοίου, η στένωση της εισόδου του κόλπου και το εκτρόπιο ουρήθρας έχουν ποσοστά που κυμαίνονται από 17-47% [43].

Κατά την κλινική εξέταση είναι σημαντικό να αναζητηθεί πιθανή διαφορική διάγνωση παθήσεων που μπορεί να προκαλούν τα ίδια συμπτώματα. Ο σπασμός των πυελικών μυών, τραυματισμός, κολπίτιδα, μετεγχειρητικές επιπλοκές, προκαρκινικές ή/και καρκινικές αλλοιώσεις, είναι κάποιες από τις διαφορικές διαγνώσεις που μπορούν να αποδοθούν τόσο συμπτώματα όσο και κλινικά σημεία που συμπεριλαμβάνονται στο σύνδρομο. Είναι πολύ σημαντικό να γίνεται ενδελεχής διερεύνηση ώστε να μην καθυστερήσει μια πιθανή διάγνωση σοβαρής πάθησης όπως είναι ο καρκίνος, ώστε η γυναίκα να μπορεί να λάβει γρήγορα την σωστή αντιμετώπιση. Εκτός από την ίδια την ζωή και η ποιότητα ζωής, όπως και η ψυχολογική και σεξουαλική υγεία των γυναικών επηρεάζεται άμεσα και αρνητικά από μη σωστή διάγνωση και χάσιμο χρόνου από μη ενδεδειγμένες θεραπείες.

Επικουρικά στην επιβεβαίωση της διάγνωσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί η κυτταρολογική εξέταση κατά Παπανικολάου με προσδιορισμό του δείκτη ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου και το pH του κολπικού υγρού [9, 21, 31, 61]. Όπως προαναφέρθηκε, το ποσοστό των επιφανειακών επιθηλιακών κυττάρων στην κυτταρολογική εξέταση πρέπει να είναι μικρότερο του 5%. Επίσης, το pH του κολπικού υγρού πρέπει να λαμβάνει αλκαλικές τιμές, επί απουσίας πάντα μικροβιακής κολπίτιδας. Όπως προαναφέρθηκε σε τιμές > 4.5 η ευαισθησία ανίχνευσης της εμμηνόπαυσης είναι περίπου 85%. Είναι δε χαρακτηριστικό ότι το pH του κολπικού υγρού συσχετίζεται θετικά με την παρουσία και το επίπεδο ενόχλησης συμπτωμάτων κολπικής ατροφίας και αρνητικά με τον δείκτη ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου, ειδικά όταν λαμβάνει τιμές > 5 [62, 63].

Άλλες διαγνωστικές προσεγγίσεις που μπορούν να πραγματοποιηθούν περιλαμβάνουν τα ακόλουθα [60]: 1) διακολπικό υπερηχογράφημα προς αναζήτηση του πάχους του ενδομητρίου, που πρέπει να είναι μικρότερο των 5 χιλιοστών και αποκλεισμό παρουσίας εξαρτηματικού όγκου, 2) υστεροσκόπηση, προς αποκλεισμό πάθησης ενδομητρικής κοιλότητας επί υπερηχογραφικών ενδείξεων, 3) τεστ κατά Παπανικολάου εκτίμησης του

κολπικού και τραχηλικού επιχρίσματος όπου θα πρέπει να εμφανίζεται ατροφικό με στένωση του εξωτραχηλικού στομίου, 4) άμεση μικροσκόπηση, «Gram» χρώση και οι καλλιέργειες κολπικού υγρού για τον αποκλεισμό παρουσίας κολπίτιδας όπως ακριβώς ορίζεται από τις κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής-Διεθνούς-Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας σχετικά με την αντιμετώπιση κολπικής έκκρισης σε όλες τις ηλικίες [64], 5) λήψη βιοψίας και η ιστολογική εξέταση επί υποψίας προκαρκινικών και καρκινικών αλλοιώσεων για να τεθεί η ορθή διάγνωση [61] και 6) επί παρουσίας συμπτωμάτων από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα μπορούν να εφαρμοστούν μη επεμβατικές μέθοδοι διάγνωσης όπως είναι το απλό υπερηχογράφημα κάτω κοιλίας, η ροομετρία και η κυτταρολογική εξέταση ούρων, αλλά και περισσότερο επεμβατικές μέθοδοι όπως είναι η πλήρης ουροδυναμική μελέτη και η κυστεοσκόπηση με ή χωρίς την λήψη βιοψιών [65].

## 2.6 Θεραπευτική αντιμετώπιση

Λόγω της εξ'ορισμού πολυπλοκότητας του ουρογεννητικού συνδρόμου, η θεραπευτική αντιμετώπιση ποικίλει και εξαρτάται από το/α σύμπτωμα/τα που υπάρχουν. Έτσι συμπεριλαμβάνει θεραπείες που έχουν σαν στόχο την αντιμετώπιση της συμπτωματικής αιδοιοκολπικής ατροφίας ή της σεξουαλικής δυσλειτουργίας ή των συμπτωμάτων από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα ή συνδυασμό αυτών. Οι θεραπευτικές προσεγγίσεις μπορεί να είναι τοπικές ή συστηματικές, μη ορμονικές ή/και ορμονικές, λήψη αντιμυοκαρινικών ή/και αντιχολινεργικών, αλλαγές στον τρόπο ζωής (π.χ συχνές σεξουαλικές επαφές, μείωση του άγχους, ψυχοθεραπεία, διακοπή καπνίσματος και λήψης καφέ κλπ), διαστολείς κόλπου, φυσιοθεραπεία μυών πυελικού εδάφους, ομοιοπαθητική και άλλες. Επειδή πρόκειται για ένα χρόνια σύνδρομο που αφορά σχεδόν το ένα τρίτο ή και περισσότερο της ζωής των γυναικών, η θεραπευτική αντιμετώπιση θα πρέπει κατ' αντιστοιχία να παρέχεται σε μακροχρόνια βάση, γεγονός που θα πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψη κατά την επιλογή της θεραπείας και να ενημερώνεται κατάλληλα η γυναίκα. Όσον αφορά την συμπτωματική αιδοιοκολπική ατροφία οι 2 βασικές αρχές που διέπουν την αντιμετώπιση της είναι η βελτίωση των συμπτωμάτων και η αποκατάσταση της ουρογεννητικής φυσιολογίας [44, 61, 66]. Το μοντέλο που έχει προταθεί στην αντιμετώπιση της σεξουαλικής δυσλειτουργίας είναι το βιοψυχοκοινωνικό μοντέλο, ο συνδυασμός δηλαδή ιατρικής, φυσιοθεραπευτικής και ψυχοθεραπευτικής αντιμετώπισης [67].

Όταν τα συμπτώματα αιδοιοκολπικής ατροφίας δεν σχετίζονται με την σεξουαλική επαφή και έχουν αποκλειστεί άλλες αιτιολογίες παρουσίας τους, τότε στις πρώτης γραμμής θεραπείες περιλαμβάνονται οι μη ορμονικές θεραπείες όπως είναι τα μακράς δράσης

κολπικά ενυδατικά αλλά και ορμονικές όπως τα χαμηλής δοσολογίας κολπικά οιστρογόνα (επί απουσίας αντενδείξεων) [44]. Σε αυτές τις περιπτώσεις 1 με 3 μήνες μπορεί να είναι αρκετοί για να συντελέσουν στην ύφεση των συμπτωμάτων, αν και μετά την διακοπή χρήσης τους τα συμπτώματα μπορεί να επανεμφανιστούν [44]. Είναι σημαντικό όμως να τονιστεί ότι δεν υπάρχουν δεδομένα στην βιβλιογραφία σχετικά με τα ποσοστά υποτροπής των συμπτωμάτων μετά την παύση χρήσης τους. Γι' αυτό, προτείνεται να χρησιμοποιούνται μέχρι ύφεσης των συμπτωμάτων και όταν υπάρξει υποτροπή να γίνεται επανάληψη της θεραπείας [44].

Η αντιμετώπιση γυναικών με συμπτωματική αιδοιοκολπική ατροφία που σχετίζεται με την σεξουαλική επαφή στηρίζεται στην σοβαρότητα των συμπτωμάτων [44]. Έτσι, πρώτης γραμμής θεραπείας είναι μη ορμονική και περιλαμβάνει κολπικά λιπαντικά κατά την σεξουαλική επαφή, μακράς δράσης ενυδατικά αρκετές φορές κατά την διάρκεια της εβδομάδας, αλλαγές στον τρόπο ζωής (π.χ συχνές σεξουαλικές επαφές, μείωση του άγχους, ψυχοθεραπεία κλπ), διαστολεις κόλπου, φυσιοθεραπεία μυών πυελικού εδάφους και ομοιοπαθητική [44, 61].

## **2.6.1 Μη Ορμονικές Τοπικές Θεραπείες**

### **2.6.1.1 Κολπικά λιπαντικά και ενυδατικά**

Από τις πιο διαδεδομένες και «over-the-counter» παγκοσμίως μη ορμονικές θεραπείες είναι τα λιπαντικά και τα ενυδατικά. Υπάρχουν διαφόρων ειδών λιπαντικά και ενυδατικά με ποικίλα συστατικά όπως είναι το νερό, η σιλικόνη, η βαζελίνη, το λάδι, polycarbophil, υαλουρονικό οξύ κ.α. Τα δεδομένα όμως για την αποτελεσματικότητά τους στην βελτίωση της ξηρότητας και δυσπαρεύνιας είναι αντικρουόμενα. Αν και υπάρχουν κάποιες ενδείξεις ότι μπορούν να ελαττώσουν ή και να εξαφανίσουν τα συμπτώματα ξηρότητας και δυσπαρεύνιας, υψηλής ποιότητας μελέτες που να εκτιμάνε την αποτελεσματικότητά τους είναι ελάχιστες. Μία δε διπλή-τυφλή τυχαιοποιημένη μελέτη υψηλής ποιότητας σύγκρισης ενυδατικών με εικονική θεραπεία ανέδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις 2 προσεγγίσεις [68].

Περαιτέρω, δεν φαίνεται να επιδρούν στην αποκατάσταση της τοπικής φυσιολογίας με μόνες ίσως εξαιρέσεις το pH-balanced gel, υαλουρονικό οξύ και Replens. Το pH-balanced gel μάλλον μπορεί να ελαττώσει το pH του κολπικού υγρού και να αυξήσει τον δείκτη ωριμότητας αλλά τα δεδομένα είναι εξαιρετικά περιορισμένα, ενώ έχει παρατηρηθεί ότι η χρήση του μπορεί να προκαλέσει τοπικό ερεθισμό [69]. Το υαλουρονικό οξύ, με δεδομένα από τις λίγες διαθέσιμες μελέτες που υπάρχουν, φαίνεται να βελτιώνει τόσο τα συμπτώματα

ξηρότητας και δυσπαρεύνιας, όσο και το pH του κολπικού υγρού και τον δείκτη ωριμότητας κατ' αντίστοιχο τρόπο με τα κολπικά οιστρογόνα (συζευγμένα οιστρογόνα (Premarin) ή 25μg οιστραδιόλης) [70, 71]. Από τα δεδομένα για το Replens φαίνεται ότι μάλλον δύναται να ελαττώσει και αυτό το pH του κολπικού υγρού, όσον αφορά όμως τον δείκτη ωριμότητας τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα. Μόνο όταν χρησιμοποιήθηκε υψηλής ευαισθησίας μέθοδος με χρήση ηλεκτρονικού υπολογιστή αναδείχτηκαν μικροαλλαγές στον δείκτη ωριμότητας, οι οποίες όμως δεν μπορούσαν να γίνουν αντιληπτές όταν το ίδιο δείγμα αναλυόταν από κυτταρολόγο [72].

Τα λιπαντικά και ενυδατικά όμως μπορεί να αποβούν επιβλαβή για την τοπική φυσιολογία. Έτσι, αυτά που έχουν ως βάση το νερό είναι υπερωσμωτικά, χαρακτηριστικό που έχει συσχετιστεί με τοξικότητα και βλάβες στα επιθηλιακά κύτταρα [44]. Περαιτέρω, κάποια προϊόντα έχει βρεθεί ότι είναι τοξικά για τους γαλακτοβακίλλους, ενώ δεν έχει διερευνηθεί η ασφάλεια χρήσης προϊόντων που περιέχουν σάκχαρα, θερμαντικές ουσίες, προπυλενογλυκόλη και parabens [44]. Όταν μάλιστα το κύριο συστατικό είναι το πετρέλαιο η πιθανότητα εμφάνισης βακτηριακής κολπίτιδας μπορεί να αυξηθεί κατά 2.2 φορές, ενώ όταν το κύριο συστατικό είναι το λάδι ο αποικισμός του κόλπου από είδη μυκήτων μπορεί να αυξηθεί από 5% χωρίς χρήση, στο 44% μετά από χρήση [73, 74].

Η διαταραχή της κολπικής χλωρίδας έχει αρνητική επίδραση στην εμφάνιση ουρολοιμώξεων όπως αναφέρθηκε ανωτέρω. Συνεπώς, τα λιπαντικά και ενυδατικά που μεταβάλουν αρνητικά την κολπική χλωρίδα μπορεί να επιφέρουν επιδείνωση στο κομμάτι των ουρολοιμώξεων. Όσον αφορά τα υπόλοιπα συμπτώματα από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα η χρήση τους είναι μάλλον ουδέτερη αν και διερευνάται κατά πόσο το μικροβίωμα του κόλπου και των ούρων συμβάλει στην εμφάνιση συμπτωμάτων συχνουρίας, επιτακτικότητας και ακράτειας. Αναμένεται λοιπόν, στο μέλλον να ανευρεθεί η πραγματική επίδραση τους στο ουρογεννητικό σύνδρομο της εμμηνόπαυσης.

Είναι δε σημαντικό να τονιστεί ότι στατιστική μετα-ανάλυση τυχαιοποιημένων μελετών που αναζητούσε την επίδραση των φαρμακευτικών μη ορμονικών εναλλακτικών των οιστρογόνων θεραπειών στην σεξουαλική υγεία και λειτουργικότητα των εμμηνοπαυσιακών γυναικών, κατέληξε ότι οι λίγες διαθέσιμες μελέτες όσον αφορά τα μη ορμονικά σκευάσματα εκτιμάνε μεν την ξηρότητα και δυσπαρεύνια αλλά ελάχιστες από αυτές ασχολούνται με την σεξουαλική λειτουργικότητα [75]. Η αποτελεσματικότητά τους στην σεξουαλική λειτουργικότητα όμως είναι χαμηλότερη σε σύγκριση με ορμονικά σκευάσματα εναλλακτικών των οιστρογόνων [75]. Συνεπώς, οι κλινικοί γιατροί δεν έχουν επαρκή ασφαλή δεδομένα για να μπορέσουν να καθοδηγήσουν τις γυναίκες όσον αφορά την σεξουαλική

λειτουργικότητα μετά την χρήση των μη ορμονικών θεραπειών, γεγονός που κάνει τη συμβουλευτική προσέγγιση του θέματος ελλιπή [75].

### **2.6.1.2 Φυσιοθεραπεία μυών πυελικού εδάφους**

Η φυσιοθεραπεία μυών πυελικού εδάφους είναι μια εναλλακτική μη φαρμακευτική αντιμετώπιση η οποία ακόμα βρίσκεται υπό διερεύνηση. Πρόκειται για πρόγραμμα εκγύμνασης που έχει ως στόχο να αυξήσει την αντοχή, δύναμη, ελαστικότητα, χαλάρωση και λειτουργικότητα των μυών του πυελικού εδάφους η οποία όμως πρέπει να γίνεται από ειδικούς φυσιοθεραπευτές και να υπάρχει καλή συμμορφωσιμότητα από τις γυναίκες [65]. Μέχρι τώρα, προτείνεται ως πρώτη γραμμής θεραπεία σε συμπτώματα δυσλειτουργίας του πυελικού εδάφους όπως είναι η ακράτεια ούρων, η χαλάρωση του κόλπου και η πρόπτωση πυελικών οργάνων [65]. Σε στατιστική μετα-ανάλυση έχει βρεθεί ότι αυξάνει κατά 5 φορές την πιθανότητα ίασης ακράτειας οποιοδήποτε τύπου, κατά 8 φορές την πιθανότητα ίασης εκ προσπάθειας και έχει θετική επίδραση στην ποιότητα ζωής και σεξουαλική λειτουργία των γυναικών αυτών [76]. Η ποιότητα όμως των αποδείξεων είναι από χαμηλή έως μέτρια [76]. Περαιτέρω, τα δεδομένα για την αποτελεσματικότητα της φυσιοθεραπείας στα συμπτώματα συχνουρίας, νυκτουρίας και έπείξης προς ούρηση με ή χωρίς ακράτεια είναι ετερογενή, χαμηλής ποιότητας και ασαφή [77]. Όσον αφορά την αιδοιοκολπική ατροφία και την γενικότερη σεξουαλική υγεία των γυναικών τα δεδομένα είναι εξαιρετικά περιορισμένα, ενθαρρυντικά (ειδικότερα σε συνδυασμό με άλλες κολπικές θεραπείες όπως είναι τα κολπικά οιστρογόνα), αλλά χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης [78 - 80].

### **2.6.1.3 Αλλαγές στον τρόπο ζωής**

Πολύ σημαντικό ρόλο στην μη φαρμακευτική αντιμετώπιση συμπτωμάτων από το κατώτερο ουροποιητικό που επίσης προτείνεται ως πρώτη γραμμής θεραπεία είναι οι αλλαγές στον τρόπο ζωής [65]. Οι αλλαγές στον τρόπο ζωής περιλαμβάνουν περιορισμό στην λήψη υγρών, εκπαίδευση της ουροδόχου κύστεως, σωματική άσκηση, διαιτητικές αλλαγές εξαιρώντας τροφές που μπορούν να σχετίζονται με συμπτώματα συχνουρίας και ακράτειας και προσθέτοντας τροφές που μπορούν να βοηθήσουν στην γενικότερη υγεία των γυναικών κλπ [65]. Για να μπορέσουν όμως να αποδώσουν αυτές οι αλλαγές χρειάζεται την απόλυτη συμμορφωσιμότητα των γυναικών, ενώ απαιτείται ιατρική παρακολούθηση προς αποφυγή υπερβολικού περιορισμού υγρών που μπορεί να αυξήσει την πιθανότητα εμφάνισης ουρολοιμώξεων αλλά και άλλων παθολογιών. Αν και δεδομένα που να ερευνούν την επίδραση των αλλαγών του τρόπου ζωής στα συμπτώματα και κλινικά σημεία ατροφίας



δε υπάρχουν, φαίνεται ότι ίσως να έχουν θέση στην βελτίωση της σεξουαλικής υγείας των γυναικών [31, 81]. Αύξηση της συχνότητας σεξουαλικών επαφών βοηθάει την διατήρηση της ελαστικότητας του κολπικού ιστού, την δημιουργία εφύγρανσης κατά την σεξουαλική επαφή, αυξάνει την αιματική ροή στον κόλπο και την παρουσία των απαραίτητων θρεπτικών ουσιών [31].

## **2.6.2 Ορμονικές Θεραπείες**

### **2.6.2.1 Κολπικά οιστρογόνα**

Επί μη ανταποκρίσεως στις πρώτης γραμμής θεραπευτικές επιλογές τα χαμηλής δοσολογίας κολπικά οιστρογόνα είναι η επόμενη επιλογή η οποία θεωρείται και «gold standard» για την αντιμετώπιση της συμπτωματικής αιδοιοκολπικής ατροφίας [44]. Σύγκριση των οιστρογόνων με εικονική θεραπεία ή με καμμία θεραπεία ανέδειξε ότι τα κολπικά οιστρογόνα υπερτερούν και ότι μπορούν να ελαττώσουν σημαντικά την ξηρότητα, δυσπαρέυνια, αίσθημα καύσου και κνησμού, ανεξαρτήτου τρόπου χορήγησης (κολπικός δακτύλιος, κολπική κρέμα κλπ) [82, 83]. Επιπλέον, τα κολπικά οιστρογόνα στην πλειοψηφία των μελετών συντελούν στην επαναφορά της φυσιολογίας του κόλπου, βελτιώνοντας τη κλινική εικόνα του κόλπου, ελαττώνοντας το pH του κολπικού υγρού, αυξάνοντας των αριθμό των γαλακτοβακίλλων στο κολπικό υγρό και αυξάνοντας τον δείκτη ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου [44, 83]. Υπάρχει όμως, μια διπλή τυφλή τυχαίοποιημένη μελέτη υψηλής ποιότητας η οποία βρήκε ότι τα χαμηλής δοσολογίας κολπικά οιστρογόνα, σε περίοδο χρήσης 12 εβδομάδων, δεν έχουν σημαντική διαφορά ως προς την ύφεση των συμπτωμάτων και την βελτίωση της τοπικής φυσιολογίας σε σύγκριση με τα ενυδατικά και την εικονική θεραπεία, [84].

Περαιτέρω, σε συστηματική ανασκόπηση της θέσης των κολπικών οιστρογόνων στο ουρογεννητικό σύνδρομο φαίνεται ότι έχουν θετική επίδραση στην ύφεση όλων των συμπτωμάτων από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα με την ποιότητα της απόδειξης να ποικίλει από πολύ χαμηλή έως μέτρια [82]. Συγκεκριμένα, τα δεδομένα βελτίωσης της επιτακτικού τύπου ακράτειας και προστασίας από τις ουρολοιμώξεις είναι μέτριας ποιότητας, ενώ τα δεδομένα μείωσης του αισθήματος καύσου, έπαιξης προς ούρηση και ακράτειας από προσπάθεια είναι χαμηλής ποιότητας και τα δεδομένα μείωσης των επεισοδίων συχνουρίας και νυκτουρίας είναι πολύ χαμηλής ποιότητας [82].

Όσον αφορά την ασφάλεια χρήσης των κολπικών οιστρογόνων, δεδομένα πέραν του έτους χρήσης δεν υπάρχουν, ενώ εγείρονται ανησυχίες για την επίδραση της χρήσης τους

στο ενδομήτριο. Σε δωδεκάμηνη παρακολούθηση χορήγησης 10 ή 25 µg οιστραδιόλης ή 0.5mg οιστριόλης παρουσιάστηκαν περιστατικά με καρκίνο ενδομητρίου ή υπερπλασία ενδομητρίου με ή χωρίς ατυπία [82, 83]. Επειδή όμως, οι μελέτες είναι λίγες με μικρό χρονικό διάστημα παρακολούθησης και ποικίλης ποιότητας, σαφή συμπεράσματα για την επίδραση τους στο ενδομήτριο δεν μπορούν να διεξαχθούν [82]. Ένα ενθαρρυντικό όμως αποτέλεσμα για την πιθανή ασφάλεια χρήσης τους είναι ότι τα επίπεδα οιστραδιόλης στο αίμα γυναικών που έλαβαν κολπικά οιστρογόνα σε σύγκριση με γυναίκες που έλαβαν εικονική θεραπεία, δεν βρέθηκε να αυξάνονται πάνω από τα φυσιολογικά όρια για την φάση της εμμηνόπαυσης [44, 82, 83]. Στον αντίλογο όμως αυτού του αποτελέσματος βρίσκεται η ερώτηση κατά πόσο οι μικρές παροδικές αυξήσεις που δεν ξεπερνούν τα φυσιολογικά επίπεδα οιστραδιόλης αίματος εμμηνοπαυσιακών γυναικών, μπορεί να πυροδοτήσει αλλαγές σε όργανα στόχους γυναικών με ιστορικό οιστρογονοεξαρτώμενων όγκων όπως ο καρκίνος μαστού. Στις ανεπιθύμητες ενέργειες των κολπικών οιστρογόνων περιλαμβάνεται η κολπική αιμόρροια, η μαστοδυνία και η ναυτία με δόσοεξαρτώμενη πιθανότητα εμφάνισης [84]. Η δε πιθανότητα αύξησης του κινδύνου θρομβεμβολικού επεισοδίου σε γυναίκες με ιστορικό εμβολής δεν έχει εκτιμηθεί [84]. Έτσι, βρίσκεται υπό αναζήτηση η όσο τον δυνατόν χαμηλότερη δοσολογία οιστρογόνων για όσο το δυνατόν μικρότερο διάστημα χορήγησης που να μπορεί να συντελέσει σε βελτίωση της συμπτωματικής αιδοιοκολπικής ατροφίας με το ελάχιστο των ανεπιθύμητων ενεργειών.

### **2.6.2.2 Συστηματική χορήγηση θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης**

Οι γυναίκες με ενδιάμεση/σοβαρή έντασης δυσπαρεΰνια που δεν επιθυμούν την κολπική χρήση ορμονικής θεραπείας, μπορούν να επιλέξουν την συστηματική θεραπεία υποκατάστασης (διαδερμική ή και από του στόματος ορμονική θεραπεία) [44, 61]. Η συστηματική ορμονική θεραπεία συνήθως προσφέρεται σαν πρώτη επιλογή όταν υπάρχουν και άλλα συμπτώματα εμμηνόπαυσης όπως εξάψεις ή/και όταν χρειάζεται προστασία από οστεοπόρωση [61]. Σχετίζεται όμως με αύξηση του κινδύνου εγκεφαλικού, θρομβοεμβολής και καρκίνου μαστού [61]. Περαιτέρω, όσον αφορά την ύφεση συμπτωμάτων αιδοιοκολπικής ατροφίας, η συστηματική χορήγηση ορμονικής θεραπείας υποκατάστασης έχει σαν αποτέλεσμα ύφεση σε 75% των περιπτώσεων, ενώ τα αντίστοιχα ποσοστά όταν δίνονται κολπικά οιστρογόνα είναι 80% με 90% [84]. Σε γυναίκες λοιπόν, που δεν ανταποκρίνονται στην συστηματική θεραπεία και χρειάζεται να συνεχίσουν να την λαμβάνουν λόγω άλλων συμπτωμάτων της εμμηνόπαυσης, τότε πρέπει να συνδυάζεται με συνεχή ή διακοπτόμενη τοπική οιστρογονική θεραπεία [61].

Εδώ και πολλά χρόνια η θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης χρησιμοποιείται για την βελτίωση συμπτωμάτων υπερδραστικής κύστης (συχνουρία, νυκτουρία, έπειξη προς ούρηση με ή χωρίς ακράτεια) χωρίς όμως να υπάρχει η απαραίτητη τεκμηρίωση και με τα δεδομένα να είναι αντικρουόμενα [85]. Μάλιστα, διπλή τυφλή τυχαιοποιημένη μελέτη η οποία σύγκρινε 25mg 17β-οιστραδιόλης με εικονική θεραπεία κατέληξε ότι και οι 2 θεραπείες συντέλεσαν στην ύφεση των συμπτωμάτων και ότι δεν υπήρχε διαφορά μεταξύ τους, ενώ περίπου 50% των γυναικών που έλαβαν την οιστρογονική θεραπεία εμφάνισαν κολπική αιμόρροια και το 56% αυτών των γυναικών υποβλήθηκε σε υστερεκτομή [86]. Περαιτέρω, έχει βρεθεί ότι η συστηματική θεραπεία με οιστρογόνα ως μονοθεραπεία ή και σε συνδυασμό με προγεσταγόνα, για προστασία του ενδομητρίου, επιδεινώνει την ακράτεια εκ προσπάθειας [87].

Μεγάλη Ευρωπαϊκή μελέτη εκτίμησης του ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης όπου αναζητήθηκε η άποψη των γυναικών όσον αφορά τις διαθέσιμες θεραπείες, κατέληξε ότι περίπου 32% των γυναικών δεν λαμβάνουν θεραπεία και δεν επιθυμούν να λάβουν λόγω φόβου ή πεποιθήσεων ότι δεν μπορούν να τις βοηθήσουν, ενώ μόνο το 45% των γυναικών που λάμβαναν θεραπείες ήταν ικανοποιημένες από τα αποτελέσματα αυτών [49]. Συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι τα πιο σημαντικά προβλήματα των λιπαντικών και ενυδατικών που θεωρούν οι γυναίκες, με ποσοστά που κυμαίνονταν από 23% έως και 56%, είναι ότι δεν μπορούν να επαναφέρουν τον κόλπο σε φυσιολογική κατάσταση, ότι η χρήση τους αφήνει υπολείμματα που τις λερώνει, ότι δεν επιτρέπουν τον σεξουαλικό αυθορμητισμό, ότι δεν υπάρχει αρκετή ύφεση των συμπτωμάτων, ενώ υπάρχει ανησυχία όσον αφορά την ασφάλεια μακροχρόνιας χρήσης τους [49]. Όσον αφορά τα κολπικά οιστρογόνα η κύρια ανησυχία τους σχετιζόταν με την έκθεση στις ορμόνες, την πιθανότητα να αναπτύξουν καρκίνο του μαστού, την ασφάλεια μακροχρόνιας χρήσης τους και ότι ο κόλπος δεν μπορούσε να επανέλθει στην φυσιολογική του κατάσταση με ποσοστά από 16% έως 26% [49].

### **2.6.2.3 Άλλες ορμονικές θεραπείες τοπικές ή συστηματικές**

Οι πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες, τα αντικρουόμενα δεδομένα αποτελεσματικότητας και η μη ικανοποίηση των γυναικών από τις υπάρχουσες θεραπείες έχει σαν αποτέλεσμα να διερευνώνται συνεχώς καινούριες φαρμακευτικές θεραπείες (π.χ εκλεκτικοί μετατροπείς των οιστρογονικών υποδοχέων, ανδρογόνα (δεϋδροαπιοανδροστερόνη (DHEA), τεστοστερόνη), φυτοοιστρογόνα συνδυασμένα με υαλουρονικό οξύ, ενδοκολπική ωκυτοκίνη

κ.α.) [44, 61, 82]. Τα περισσότερα δεδομένα όμως αφορούν την οσπεμιφένη και τα ανδρογόνα.

## **Οσπεμιφένη**

Η οσπεμιφένη έχει εγκριθεί στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής (ΗΠΑ) για την αντιμετώπιση μέτριας έως και σοβαρής δυσπαρεύνιας [44]. Φαίνεται ότι 60mg οσπεμιφένης σε καθημερινή λήψη έχει θετική επίδραση στην τοπική φυσιολογία και στο πιο ενοχλητικό σύμπτωμα της αιδοιοκολπικής ατροφίας που είναι η κολπική ξηρότητα [88 - 90]. Επίσης, φαίνεται ότι έχει θετική επίδραση στα συμπτώματα από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα λόγω ατροφίας, ενώ μπορεί να βελτιώσει την σεξουαλική λειτουργία [91]. Το δε συνολικό ποσοστό επιτυχίας σε αυτή την ομάδα γυναικών αγγίζει το 91% [91].

Στις ανεπιθύμητες ενέργειες όμως περιλαμβάνονται τα αγγειοκινητικά συμπτώματα, η αύξηση του κινδύνου για θρομβοεμβολικά επεισόδια και άλλες κατ' αντιστοιχία με τα οιστρογόνα, γι' αυτό και υπάρχει στην συσκευασία κουτάκι με προειδοποιήσεις [44]. Περαιτέρω, δεν πρέπει να χορηγείται σε γυναίκες με ιστορικό καρκίνου μαστού γιατί δεν υπάρχουν δεδομένα όσον αφορά την ασφάλεια χρήσης του σε αυτήν την ομάδα γυναικών [44].

## **DHEA**

Η χρήση DHEA έχει επίσης εγκριθεί στις ΗΠΑ για την αντιμετώπιση της μέτριας προς σοβαρής έντασης δυσπαρεύνιας ως αποτέλεσμα της αιδοιοκολπικής ατροφίας [60, 88]. Μάλιστα, φαίνεται ότι μπορεί βελτιώσει την δυσπαρεύνια και την ξηρότητα κατά 46% και 23%, αντιστοίχως [75]. Στατιστική μετα-ανάλυση τυχαιοποιημένων μελετών που αναζητούσε την επίδραση των εναλλακτικών των οιστρογόνων ορμονικών θεραπειών στην σεξουαλική υγεία και λειτουργικότητα των εμμηνοπαυσιακών γυναικών κατέληξε ότι η χρήση 0.5% DHEA βελτιώνει σημαντικά την δυσπαρεύνια και ξηρότητα που υπερβαίνει την αντίστοιχη βελτίωση μετά από χορήγηση εικονικής θεραπείας [75]. Η χρήση όμως 0.25% DHEA δεν μειώνει σημαντικά την δυσπαρεύνια σε σύγκριση με εικονική θεραπεία, αν και μειώνει την ξηρότητα [75]. Επιπλέον, ανεξαρτήτου δοσολογίας η βελτίωση των συμπτωμάτων αιδοιοκολπικού ερεθισμού και κνησμού, σε σύγκριση με εικονική θεραπεία, δεν αγγίζει στατιστικά σημαντικά επίπεδα, ενώ παραμένουν άγνωστες οι πιθανές μεταβολές των συμπτωμάτων από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα. Η δε βελτίωση της σεξουαλικής επιθυμίας, αποφυγή οικειότητας, ικανότητα εφύγρανσης και σεξουαλικότητας

είναι δοσοεξαρτώμενη και ποικίλει από 31% - 51%, 43% - 50% και 47% - 51%, αντιστοίχως, ενώ η βελτίωση της ικανότητας οργασμού δεν ξεπερνάει αυτήν μετά από χορήγηση εικονικής θεραπείας [75]. Όσον αφορά την τοπική φυσιολογία φαίνεται ότι επιδρά θετικά, βελτιώνοντας τον δείκτη ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου και το pH του κολπικού υγρού. Μάλιστα, θεωρείται ότι έχει πιο ασφαλές προφίλ χρήσης σε σύγκριση τόσο με τα οιστρογόνα όσο και με την οσπεμιφένη, γεγονός που επιβεβαιώνεται από την απουσία προειδοποιήσεων στην συσκευασία. Η οιστραδιόλη αίματος έχει αναφερθεί να αυξάνεται από 3.33 σε 5.04 pg/ml ενώ η τεστοστερόνη από 12 σε 15ng/dl [92]. Η πιο συχνή ανεπιθύμητη ενέργεια που έχει αναφερθεί μέχρι τώρα είναι η κολπική υπερέκκριση. Το γεγονός όμως ότι δεν έχει διερευνηθεί η ασφάλεια χρήσης σε γυναίκες με ιστορικό καρκίνου του μαστού συντελεί στο να μην προτείνεται σε αυτή την ομάδα γυναικών.

### **Τεστοστερόνη**

Η τεστοστερόνη μπορεί να χορηγηθεί είτε συστηματικά είτε τοπικά. Η συστηματική χορήγηση για την αντιμετώπιση της διαταραχής μειωμένης σεξουαλικής επιθυμίας (HSDD) και της διαταραχής μειωμένης σεξουαλικής διέγερσης [93]. Σχετικά περισσότερα είναι τα δεδομένα για την κολπική χρήση τεστοστερόνης όπου φαίνεται ότι ελαττώνει την δυσπαρέυνια, και ξηρότητα, βελτιώνει την σεξουαλική λειτουργία των γυναικών, ενώ από τα ελάχιστα δεδομένα που υπάρχουν σχετικά με την λειτουργία του κατώτερου ουροποιητικού φαίνεται ότι δεν μεταβάλλει τα συμπτώματα ακράτειας [75, 94 - 96]. Μάλιστα, η σεξουαλική ικανοποίηση των γυναικών έχει βρεθεί ότι δεν έχει διαφορά όταν χορηγείται ως μονοθεραπεία ή προστίθεται σε οιστρογονική θεραπεία [75]. Επιπλέον, σε σύγκριση με λιπαντικά η τεστοστερόνη αυξάνει σημαντικά το ποσοστό των γαλακτοβακίλλων, μειώνει το pH του κολπικού υγρού και βελτιώνει τον δείκτη ωριμότητας [94, 97]. Σε μελέτη σύγκρισης κολπικής τεστοστερόνης με κολπικό δακτύλιο οιστραδιόλης βρέθηκε ότι στην ομάδα των γυναικών που λάμβαναν τεστοστερόνη η οιστραδιόλη αίματος αυξήθηκε από 2-31 pg/ml σε 14-113 pg/ml [96]. Η παραγωγή λοιπόν οιστρογόνων από την τεστοστερόνη μέσω της αρωματοποίησης, εγείρει αμφιβολίες για την ασφάλεια χρήσης της, οπότε έχει τις ίδιες αντενδείξεις με τα οιστρογόνα [94].

## **Άλλες φαρμακευτικές θεραπείες για την αντιμετώπιση συμπτωμάτων από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα**

Δεύτερης γραμμής θεραπεία για τα συμπτώματα υπερδραστήριας κύστης με ή χωρίς παρουσία ακράτειας είναι η φαρμακευτική αντιμετώπιση με αντιμουςκαρινικά, οι β<sub>3</sub>-αδρενεργικοί αγωνιστές, δεσμοπρεσίνη, τρικυκλικά αντικαταθλιπτικά κ.α [98 - 100]. Τα φάρμακα αυτά μπορούν να δοθούν ως μονοθεραπεία ή και σε συνδυασμό μεταξύ τους ή σε συνδυασμό με τα κολπικά οιστρογόνα [85, 98-102]. Στην ομάδα των αντιμουςκαρινικών ανήκουν η oxybutynin, τολτεροδίνη, σολιφενακίνη, φεσοτεροδίνη κλπ. με πρώτη επιλογή την τολτεροδίνη [101]. Πρόκειται για ανταγωνιστές των μουςκαρινικών υποδοχέων και βελτιώνουν τα συμπτώματα υπερδραστήριας κύστης με το να μπλοκάρουν τους M2 και M3 υποδοχείς της κύστης και του ουροθηλίου και συνεπώς να επιδρούν στην ακούσια σύσπαση του εξωστήρα και στην αύξηση της αισθητικότητας [101]. Οι β<sub>3</sub>-αδρενεργικοί αγωνιστές συντελούν στην χαλάρωση της ουροδόχου κύστεως, βελτίωση της χωρητικότητας της ουροδόχου κύστεως και αποθήκευσης των ούρων [101].

Τόσο τα αντιμουςκαρινικά όσο και οι β<sub>3</sub> αδρενεργικοί αγωνιστές ελαττώνουν τα επεισόδια ούρησης κατά την διάρκεια της ημέρας αλλά και της νύχτας, την έπείξη προς ούρηση, τα επεισόδια επιτακτικής ακράτειας και την ποιότητα ζωής των γυναικών [101]. Ελάχιστα είναι τα δεδομένα για την σεξουαλική λειτουργία των γυναικών μετά την λήψη αυτών των 2 κατηγοριών φαρμάκων, ενώ δεν έχει εκτιμηθεί η επίδραση τους στα συμπτώματα και κλινικά σημεία της αιδοιοκολπικής ατροφίας. Λαμβάνοντας όμως υπόψη την παθοφυσιολογία του ουρογεννητικού συνδρόμου όπως και τον τρόπο δράσης αυτών των φαρμάκων, γίνεται κατανοητό ότι μάλλον δεν μπορούν να επιφέρουν αλλαγές σε αυτές τις εκδοχές του ουρογεννητικού συνδρόμου. Ο συνδυασμός δε της τολτεροδίνης με κολπικά οιστρογόνα αυξάνει την αποτελεσματικότητα και των δυο θεραπειών [103]. Στις ανεπιθύμητες ενέργειες των αντιμουςκαρινικών περιλαμβάνονται η ξηροστομία, δυσκοιλιότητα, θάμβος όρασης, σύγχυση και παράταση του QT διαστήματος στο ηλεκτροκαρδιογράφημα οι οποίες συντελούν σε κακή συμμορφωσιμότητα των γυναικών και στην πρόωρη διακοπή της θεραπείας [102]. Μάλιστα η δυσκοιλιότητα οδηγεί σε διακοπή χρήσης του έως και το 50% των ασθενών, ενώ μέσα στον πρώτο μήνα έχει υπολογιστεί ότι το ποσοστό των ασθενών που θα διακόψουν την χρήση τους κυμαίνεται από 43% έως 83% [104, 105]. Στις αντενδείξεις χορήγησης των αντιμουςκαρινικών είναι το γλαύκωμα κλειστής γωνίας, μυασθένεια Gravis, ελκωτική κολίτιδα, τοξικό megacolon και η εντερική απόφραξη [102]. Στις ανεπιθύμητες ενέργειες των β<sub>3</sub> αδρενεργικών αγωνιστών συμπεριλαμβάνονται η υπέρταση,

η ρινοφαρυγγίτιδα, ο πονοκέφαλος και οι ουρολοιμώξεις [101]. Περίπου το 70% των περιστατικών διακόπτουν την θεραπεία πριν τους 12 μήνες [101].

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3**

### **«ΦΩΤΟΜΙΚΡΟΕΞΑΧΝΩΣΗ (LASER)»**



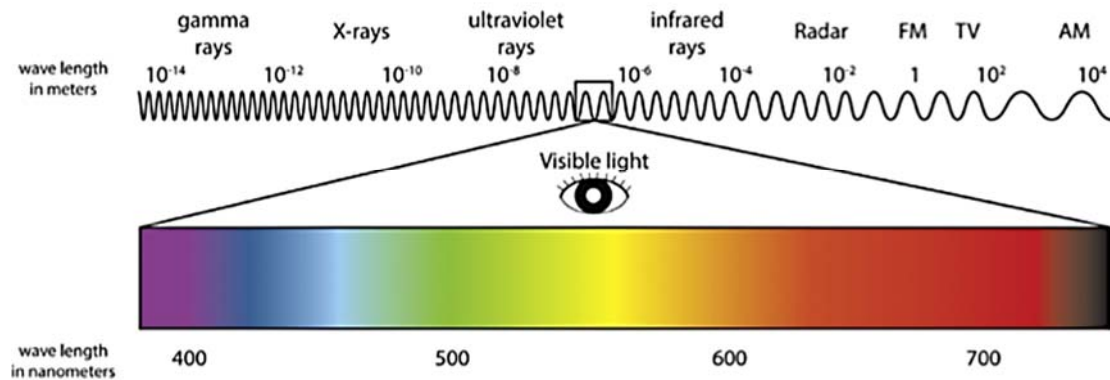
### 3.1 Εισαγωγή

Όπως παρουσιάστηκε στο Κεφάλαιο 2 το Ουρογεννητικό Σύνδρομο της Εμμηνόπαυσης είναι πολύπλοκο με ποικίλα συμπτώματα και κλινικά σημεία, για το οποίο αν και υπάρχουν πολλές θεραπευτικές προσεγγίσεις δεν υπάρχει η ιδανική θεραπεία. Άλλωστε ο όρος ουρογεννητικό σύνδρομο της εμμηνόπαυσης περιλαμβάνει όρους που μέχρι πριν την δημιουργία του θεωρούνταν διαφορετικές οντότητες όποτε και ήταν λογικό να υπάρχουν διαφορετικές θεραπείες. Ιδανική θεραπεία για το σύνδρομο θα ήταν μια θεραπεία που θα μπορούσε να έχει ολιστική προσέγγιση του συνδρόμου, να μπορεί δηλαδή να βελτιώσει τόσο τα συμπτώματα από το κατώτερο γεννητικό όσο και από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα και ταυτόχρονα να μπορεί να δρα σε επίπεδο κολπικού ιστού επιφέροντας αλλαγές στην τοπική φυσιολογία. Επίσης, θα πρέπει να εξασφαλίζει την συμμόρφωση των γυναικών στην θεραπεία, να έχει μακροχρόνια διάρκεια δράσης, να επιτρέπει τον σεξουαλικό αυθορμητισμό, να επιδρά θετικά στην σεξουαλική λειτουργία, ψυχολογία και ποιότητα ζωής των γυναικών, χωρίς όμως οι γυναίκες να φοβούνται να την χρησιμοποιήσουν. Έτσι, λαμβάνοντας υπόψη όλα τα παραπάνω και το κενό που υπάρχει στην θεραπευτική αντιμετώπιση του συνδρόμου, άρχισε να διερευνάται η αποτελεσματικότητα των φωτοθερμικών θεραπειών με ή χωρίς μικροεξάχνωση γνωστά ως «laser».

Ο όρος laser προκύπτει από τα αρχικά «Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation» που μεταφράζεται «ενίσχυση φωτός μέσω διεγερμένης εκπομπής ακτινοβολίας». Είναι μηχανήματα δηλαδή που παράγουν ενέργεια με την μορφή παλμικού φωτός που αλληλοεπιδρά με τον ιστό στόχο για να προκαλέσουν το επιθυμητό κλινικό αποτέλεσμα.

### 3.2 Βασικές αρχές λειτουργίας των laser

Τα laser όπως και άλλες μορφές ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας αποτελούνται από φωτόνια τα οποία ταξιδεύουν με ταχύτητα φωτός ( $2.998 \times 10^8$  m/s) υπό μορφή ημιτονοειδούς κύματος [106]. Το μήκος κύματος είναι η απόσταση ανάμεσα σε 2 διαδοχικές κορυφές του ηλεκτρομαγνητικού ημιτονοειδούς κύματος και κυμαίνεται από πολύ μικρές αποστάσεις (ακτίνες γάμμα) έως πολύ μεγάλες (ραδιοκύματα AM) [106]. Το ορατό φως βρίσκεται σε σχετικά μικρό φάσμα της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας ανάμεσα στα 400 nm (βιολετί) και 800 nm (κόκκινο) (Εικόνα 12) [26, 106]. Τα laser μπορούν να λειτουργούν στο υπεριώδες (157 - 400 nm), ορατό (380 – 740 nm), εγγύς υπέρυθρο (800 – 3000 nm), μέσο υπέρυθρο (3.000 - 30.000 nm) και άπω υπέρυθρο (>30000 nm) ηλεκτρομαγνητικό φάσμα [107].

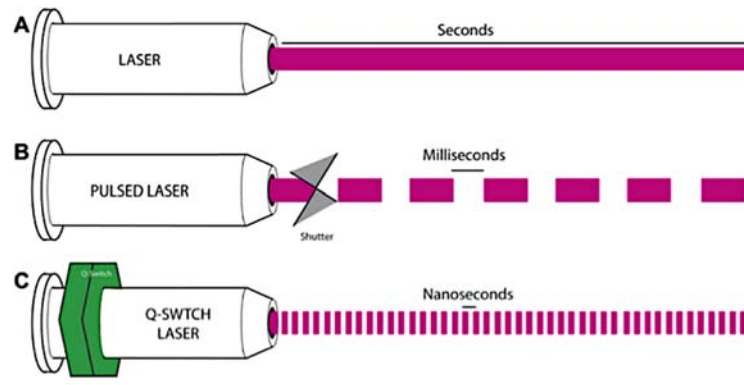


**Εικόνα 12.** Φάσμα ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας [Franck et al. *Clin Plastic Surg* 2016 (Παραπομπή 106)].

Τα διαφορετικά μήκη κύματος του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος απορροφούνται με διαφορετικό τρόπο από τα χρωμοφόρα στοιχεία των ιστών όπως είναι η αιμοσφαιρίνη, η μελανίνη, ο συνδετικός ιστός και το νερό [108]. Η επιλεκτική φωτοθερμόλυση περιγράφει το επιθυμητό κλινικό αποτέλεσμα που παράγεται από τα διαφορετικά μήκη κύματος των laser που απορροφούνται από τα διάφορα χρωμοφόρα στοιχεία του ιστού στόχου [109]. Μάλιστα, για να αυξηθεί στο μέγιστο η απορρόφηση από τα στοιχεία που περιέχει ο κάθε ιστός και να υπάρχει η μέγιστη κλινική αποτελεσματικότητα η επιλογή του μήκους κύματος γίνεται με βάση το κύριο χρωμοφόρο στοιχείο που περιέχει ο ιστός στόχος [26]. Έτσι, όταν οι ιστοί έχουν ελάχιστα χρωμοφόρα στοιχεία, τα μήκη κύματος που πρέπει να επιλέγονται είναι εκείνα που απορροφούνται από το νερό ώστε να επιτευχθεί η εξάχνωση [110]. Συγκεκριμένα, τα 2 laser που έχουν χρησιμοποιηθεί για την δημιουργία ανάπλασης του κοιλιακού ιστού χρησιμοποιούν το μεν διοξείδιο του άνθρακα ( $\text{CO}_2$  laser) και το δε άλλο erbium-doped yttrium aluminium garnet laser (Er:YAG laser) και έχουν μήκη κύματος 10600 nm και 2940 nm, αντιστοίχως [26]. Έτσι, το  $\text{CO}_2$  laser απορροφάται ισχυρά από το νερό, ενώ το Er:YAG laser με μήκος κύματος κοντά στην κορυφή απορρόφησης από το νερό απορροφάται 16 φορές περισσότερο σε σύγκριση με το  $\text{CO}_2$  laser [26].

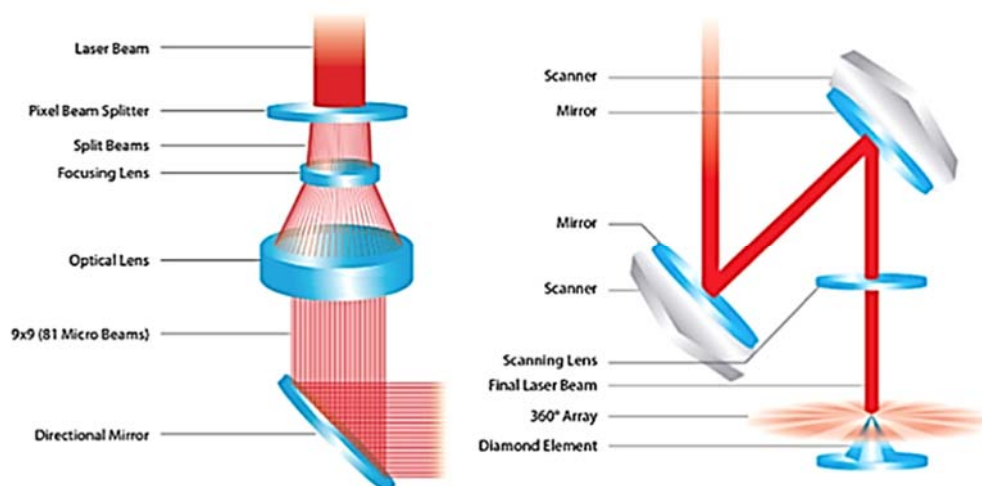
Η διάρκεια του παλμού του laser καθορίζει την περιοχή όπου επιτυγχάνεται το θερμικό αποτέλεσμα. Δηλαδή, θα πρέπει ο παλμός του laser να είναι ίσος ή μικρότερος από τον χρόνο «ξεκούρασης» ( $\tau_r$ ) του χρωμοφόρου στοιχείου του ιστού στόχου [110]. Ως χρόνος «ξεκούρασης» ορίζεται ο χρόνος που χρειάζεται η θερμοκρασία, με μορφή κατανομής Gaussian όπου το πλάτος της ισούται με την διάμετρο του ιστού, για να μειωθεί κατά 50% από την θερμοκρασία που αποκτά ο ιστός αμέσως μετά την έκθεση του στο laser [26]. Ο παλμός του laser μπορεί να είναι συνεχής ή να παράγεται κατά ώσεις (pulsed) [106]. Οι 2

τύποι laser που απελευθερώνουν την ενέργεια κατά ώσεις περιλαμβάνουν τη χρήση μηχανικού διαφράγματος (pulsed laser) ή θαλάμου συντονισμού (Q-switch και pico lasers) (εικόνα 13) [106].



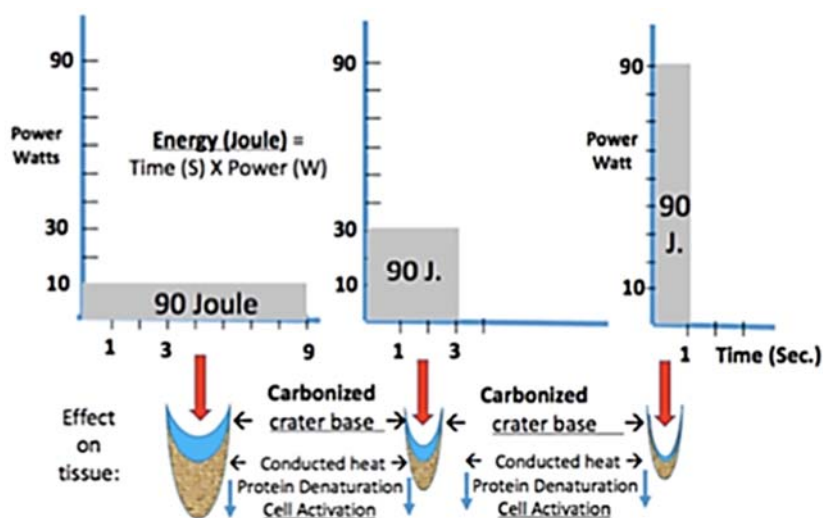
**Εικόνα 13.** Α) Συνεχές παλμός, Β) Παλμός που χρησιμοποιεί μηχανικό διάφραγμα, C) παλμός που χρησιμοποιεί θάλαμο συντονισμού [Franck et al. *Clin Pastic Surg* 2016 (Παραπομπή 106)].

Η δέσμη της ακτίνας laser μπορεί να διαχωριστεί σε πολλές μικροδέσμες με γρήγορη σάρωση από ηλεκτρονικό υπολογιστή ή με διαχωριστή ολογραφικής δέσμης δημιουργώντας στον ιστό αποτυπώματα μικροδέσμης με στόχο την ενεργοποίηση των κυττάρων (Εικόνα 14) [26]. Η τεχνολογία κλασματοποίησης της δέσμης laser έχει σαν αποτέλεσμα να δημιουργούνται μικροσκοπικές περιοχές εξάχνωσης που εναλλάσσονται με περιοχές χωρίς θεραπεία [26].



**Εικόνα 14.** Αριστερά απεικονίζεται η ακτίνα laser η οποία κλασματοποιείται με ολογραφικό φακό, ενώ δεξιά απεικονίζεται η δέσμη laser η οποία παραδίδεται μέσω υπολογιστή, 2 παράλληλους καθρέφτες και φακούς σάρωσης [Tadir et al. *Lasers Surg Med* 2017 (Παραπομπή 26)].

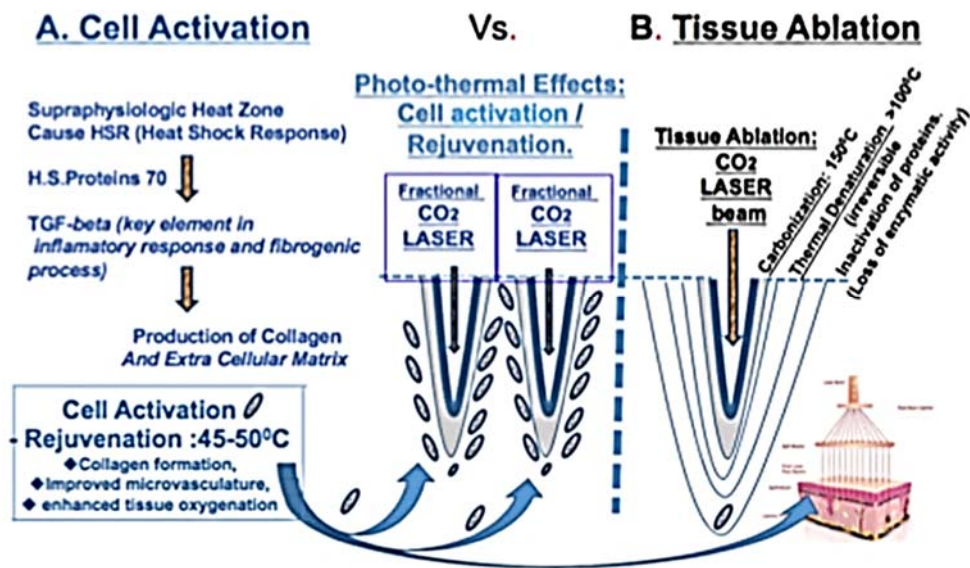
Το κλινικό αποτέλεσμα στον ιστό εξαρτάται από την ενέργεια και από το βάθος που θα φτάσει η ενέργεια [26]. Η ενέργεια σε Joule υπολογίζεται από τον χρόνο μετάδοσης της ενέργειας σε δευτερόλεπτα πολλαπλασιασμένο με την ισχύ της ενέργειας σε Watt. Έτσι, είναι δυνατόν η ίδια ενέργεια να δώσει διαφορετικό αποτέλεσμα στον ιστό (Εικόνα 15) [26]. Επίσης, το βάθος που θα φτάσει η ενέργεια εξαρτάται και από την πυκνότητα και το μέγεθος της κάθε μικροδέσμης [26]. Με αυτόν τον τρόπο δημιουργούν μια μικρή κουκίδα που έχει ακτινοβοληθεί στον ιστό στόχο (spot size) [26].



**Εικόνα 15.** Παραδείγματα διαφορετικών αποτελεσμάτων στον ιστό με την χρήση ίδιας ενέργειας [Tadir et al. *Lasers Surg Med* 2017 (Παραπομπή 26)].

Η θερμομηχανική καταστροφή του ιστού που επιτυγχάνει το CO<sub>2</sub> laser εκτείνεται σε βάθος 200-300 mm και ακολουθείται από την σύσφιξη του ιστού μέσω της διαδικασίας θερμικής συρρίκνωσης του κολλαγόνου και της νεο-κολλαγονογένεσης όπως έχει ανευρεθεί σε δερματολογικές μελέτες. Μάλιστα, αυτό το αποτέλεσμα συμβαίνει σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται μεταξύ 45° και 50° C στη ζώνη που περιβάλλει τον ιστό (Εικόνα 16) [26]. Ως μέρος της διαδικασίας επούλωσης τραύματος, τα κύτταρα αντιδρούν σε αύξηση της θερμοκρασίας λόγω ανταπόκρισης στο θερμικό σοκ, η οποία μπορεί να οριστεί ως μια προσωρινή μεταβολή στον κυτταρικό μεταβολισμό που χαρακτηρίζεται από την παραγωγή πρωτεϊνών θερμικού σοκ [26]. Δερματολογικές μελέτες έδειξαν ότι η θερμική πρωτεΐνη 70 παίζει ρόλο στην συντονισμένη έκφραση αυξητικών παραγόντων όπως ο μετασχηματισμός του TGF-β, ο οποίος είναι γνωστό ότι είναι ένα βασικό στοιχείο της φλεγμονώδους

απάντησης, της ινωδογόνου διεργασίας και στην παραγωγή νέου κολλαγόνου και εξωκυττάριας ουσίας [111].



**Εικόνα 16.** Α) Κυτταρική ενεργοποίηση από laser διοξειδίου του άνθρακα κλασματοποίησης δέσμης, Β) Εξάχνωση ιστού και θερμικό αποτέλεσμα στα παρακείμενα στρώματα ιστού από κλασσικό laser διοξειδίου του άνθρακα [Tadir et al. *Lasers Surg Med* 2017 (Παραπομπή 26)].

### 3.3 Εφαρμογή θεραπειών με laser μηχανήματα

Οι θεωρίες στις οποίες βασίζονται τα laser περιεγράφηκαν αρχικά το 1917 από τον Albert Einstein και στην συνέχεια από τους Townes, Gennadiyevich και Mikhailovich στην δεκαετία του '50 όπου πήραν βραβείο Nobel Φυσικής για την θεμελιώδη έρευνα τους στην κβαντική φυσική το 1964 [112, 113]. Από την αρχή της δημιουργίας των laser ήταν σαφές ότι έχουν πολλές δυνατότητες ως υψηλής ακρίβειας θεραπευτικές μέθοδοι. Το 1995 λοιπόν, σε συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας οι Reid και Absten κατέληξαν ότι για συγκεκριμένους σκοπούς τα laser αποτελούν από τα πιο ασφαλή και πολλών δυνατοτήτων εργαλεία που θα μπορούσε να έχει ένας χειρουργός [114]. Μάλιστα, το 2006 οι Copperman & DeCherney εκδότες του περιοδικού *Fertility & Sterility* απέδωσαν μνεία στους «μοντέρνους πρωτοπόρους» που χρησιμοποιούν laser για να προωθήσουν αλλαγές στην γυναικολογική χειρουργική και συντελούν στην μετάβαση από την συμβατική χειρουργική στην ελάχιστη επεμβατική [115].

Τα laser αρχικά χρησιμοποιούνταν μόνο σε χειρουργικές επεμβάσεις για αιμόσταση ή εξαίρεση ιστών. Οι δερματολόγοι και πλαστικοί χειρουργοί ξεκίνησαν πρώτοι να τα χρησιμοποιούν στην επούλωση τραυμάτων και στην αντιμετώπιση ουλώδη ιστού στο δέρμα

και κυρίως στο πρόσωπο. Στην συνέχεια επεκτάθηκαν στην ανάπλαση του δέρματος για κοσμητικούς λόγους (π.χ αναίμακτη αντιμετώπιση ρυτίδων, αντιμετώπιση φωτογήρανσης κλπ).

Στην γυναικολογία τα laser έχουν χρησιμοποιηθεί στην επεμβατική λαπαροσκόπηση, στην επεμβατική υστεροσκόπηση (αφαίρεση ινομυωμάτων, πολυποειδών μορφωμάτων, αντιμετώπιση γεννητικών ανωμαλιών κ.α), στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή (π.χ στην προεμφυτευτική διάγνωση (PGD) κατά την *in vitro* γονιμοποίηση) και στην γυναικολογική ογκολογία (π.χ αφαίρεση βλαβών από τον Human Papilloma Virus (HPV) από τον τράχηλο της μήτρας (LETZ) ή τον κόλπο ή το αιδοίο κλπ) [26]. Μόλις λίγους μήνες πριν την έναρξη της παρούσας διδακτορικής διατριβής δημοσιεύθηκαν σε διεθνές επίπεδο κάποια λίγα πρώτα πιλοτικά αποτελέσματα εφαρμογής της τεχνικής laser σε συνολικά 238 γυναίκες με συμπτωματική αιδοιοκολπική ατροφία [116-120] χρησιμοποιώντας το laser φωτομικροεξάχνωσης κλασματικοποιημένης απελευθέρωσης δέσμης φωτός CO<sub>2</sub> [Microablative Fractional CO<sub>2</sub> laser (CO<sub>2</sub> laser)] με την εμπορική ονομασία SmartXide<sup>2</sup> V<sup>2</sup>LR, Monalisa Touch, DEKA, Florence, Italy. Το συγκεκριμένο μηχάνημα όπως θα αναπτυχθεί στο Κεφάλαιο 2 του Ειδικού Μέρους είναι το μηχάνημα που χρησιμοποιήθηκε και στο παρόν ερευνητικό πρωτόκολλο.

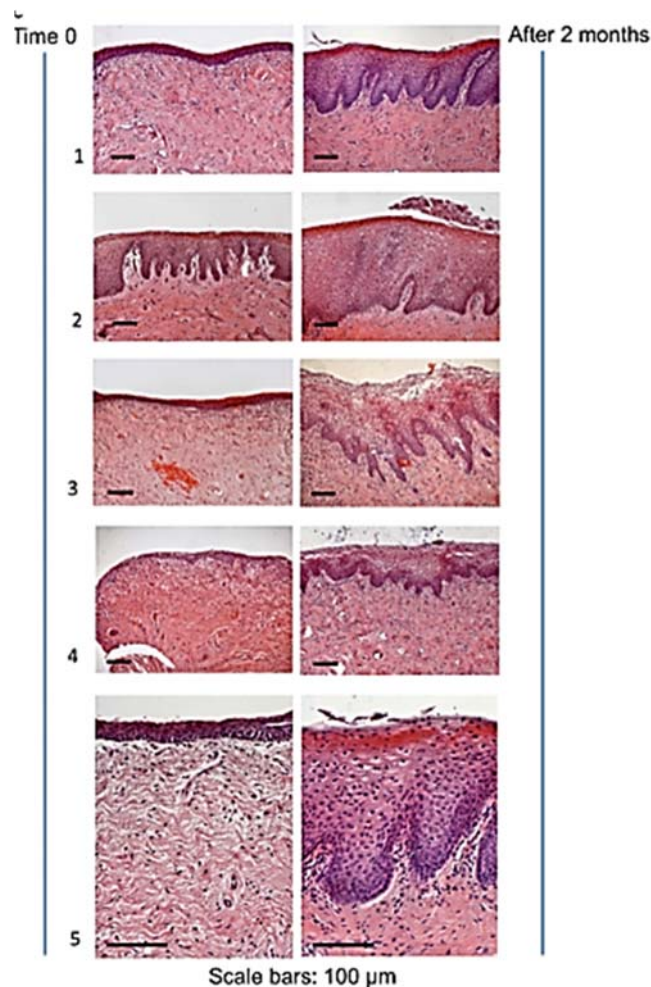
### **3.3.1 Εφαρμογή θεραπείας laser σε γυναίκες με ουρογεννητικό σύνδρομο της εμμηνόπαυσης: Δεδομένα από την διεθνή βιβλιογραφία**

Όπως αναφέρθηκε η τεχνική laser με στόχο την ανάπλαση ιστού χρησιμοποιήθηκε αρχικά από δερματολόγους και πλαστικούς χειρουργούς. Συνεπώς, αν και υπήρχαν στην βιβλιογραφία αρκετά δεδομένα για την εφαρμογή των laser στο δέρμα δεν υπήρχαν στοιχεία για την εφαρμογή τους στον κολπικό βλεννογόνο. Για να είναι ασφαλής η χρήση τους έπρεπε προ της κλινικής εφαρμογής στον βλεννογόνο του κόλπου να προσδιοριστούν οι παράμετροι (η ισχύς, ο χρόνος, η πυκνότητα της μικροδέσμης και το βάθος διείσδυσης της ενέργειας στον ιστό). Έτσι, η πρώτη μελέτη που πραγματοποιήθηκε ήταν «ex vivo» σε 5 γυναίκες στις οποίες εφαρμόστηκε CO<sub>2</sub> laser και διερεύνηθηκαν με παθολογοανατομική εξέταση οι μεταβολές που προκαλούσε σε επίπεδο ιστού οι ακόλουθοι παράμετροι: ισχύς 30 watt, χρόνος 0.001s (1000μs), διάστημα ανάμεσα στις μικροδέσμες 1000 ή 2000μm και βάθος με βαθμολόγηση από το 1 έως το 3 [116]. Σε αυτήν την μελέτη ανευρέθη ότι τα καλύτερα αποτελέσματα όσον αφορά την διαδικασία παρουσίας ανάπλασης (ενεργοποίηση των ινοβλαστών, αλλαγές στο κολλαγόνο και τις ελαστικές ίνες και παρουσία

βλεννοπολυσακχαριτών στο χόριο) ήταν όταν τα διαστήματα ανάμεσα στις μικροδέσμες λάμβαναν τιμή 1000 μm και το βάθος βαθμολόγησης 3.

Οι κλινικές μελέτες που ακολούθησαν, 3 τον αριθμό με 233 συμμετέχουσες, εκτίμησαν την επίδραση 3 θεραπειών CO<sub>2</sub> laser στα συμπτώματα, κλινικά σημεία και ιστολογικά ευρήματα της αιδοιοκολπικής ατροφίας [117 - 120]. Το θεραπευτικό πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε σε αυτές τις μελέτες ήταν 1 θεραπεία κάθε 30 ημέρες και εφαρμογή του laser τόσο ενδοκολπικά όσο και εξωτερικά στο αιδοίο. Οι δε παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν στις μελέτες κατά την ενδοκολπική χρήση και μέχρι τον πρόδομο ήταν ισχύς 30 ή 40 watts, χρόνος διάρκειας παλμού 1000 μs, διαστήματα ανάμεσα στις μικροδέσμες 1000 μm και βάθος που αυξανόταν (από 1 έως 3) κατά αντιστοιχία με τις θεραπείες ή διατηρούταν σταθερό σε κάθε θεραπεία. Στον πρόδομο και κατά την αιδοϊκή εφαρμογή η ισχύς ελαττωνόταν σε 20 watts ενώ το βάθος παρέμενε σταθερό. Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών ανέδειξαν ότι μετά από 3 θεραπείες laser η δυσπαρεύνια, η ξηρότητα, το αίσθημα κολπικού καύσου και κνησμού, το αίσθημα καύσου κατά την ούρηση, η σεξουαλική υγεία, η ποιότητα ζωής και τα κλινικά σημεία, όπως αυτά μπορούν να εκτιμηθούν από τον δείκτη υγείας του κόλπου, μπορούν να βελτιωθούν με στατιστικά σημαντικό τρόπο. Μάλιστα, η βελτίωση των συμπτωμάτων ξεκινούσε ήδη 1 μήνα μετά την πρώτη θεραπεία και συνεχιζόταν μέχρι και 1 μήνα μετά την 3<sup>η</sup> θεραπεία.

Περαιτέρω, η ιστολογική εξέταση βιοψιών που ελήφθησαν από 5 γυναίκες που συμμετείχαν σε μία από τις 3 κλινικές μελέτες ανέδειξε ότι 2 μήνες μετά τις θεραπείες υπήρξε αύξηση του πάχους του κολπικού επιθηλίου με ταυτόχρονη αύξηση του αριθμού των κυτταρικών στρωμάτων και παρουσία γλυκογόνου, δημιουργία θηλών που ξεκινούσαν από τον συνδετικό ιστό και εισέρχονταν στο επιθήλιο, αύξηση των ινοβλαστών, γλυκοπρωτεϊνών, πρωτεογλυκανών και αιμοφόρων αγγείων που εισέρχονταν μέσω των θηλών στο επιθήλιο ώστε να παρέχουν τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά (Εικόνα 17) [120].



**Εικόνα 17.** Ιστολογική εικόνα από 5 εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με αιδοιοκολπική ατροφία που υπεβλήθησαν σε CO<sub>2</sub> laser θεραπεία (πριν την θεραπεία και 2 μήνες μετά την θεραπεία [Zerbinati et al. *Lasers Med Sci* 2014 (Παραπομπή 120)]).

Τα αποτελέσματα όμως αυτών των μελετών μπορεί να εκληφθούν μόνο ως ενδείξεις γιατί πρόκειται για πιλοτικές μελέτες χωρίς στατιστικό προσδιορισμό του απαραίτητου αριθμού συμμετεχουσών και της δύναμης της μελέτης και χωρίς προσπάθεια αντικειμενικότητας κατά την εκτίμηση των κλινικών σημείων και ιστολογικών ευρημάτων που τεκμαίρεται από το γεγονός ότι οι ερευνητές γνώριζαν το θεραπευτικό πρωτόκολλο που είχαν ακολουθήσει οι γυναίκες. Επίσης, καμία από αυτές τις μελέτες δεν εκτίμησε την πιθανή επίδραση της θεραπείας στα συμπτώματα από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα, ούτε και τις μεταβολές στην κολπική χλωρίδα, το pH του κολπικού υγρού και τον δείκτη ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου. Όσον αφορά το pH του κολπικού υγρού αν και εκτιμήθηκε αδρά, ως μια από τις παραμέτρους που συνυπολογίζεται μαζί με άλλες 4 για τον προσδιορισμό του δείκτη υγείας του κόλπου, τα του αποτελέσματα του δεν παρουσιάστηκαν. Περαιτέρω, τα ιστολογικά ευρήματα προέρχονταν από βιοψίες από μόνο 5 επιλεκτικά γυναίκες χωρίς δυνατότητα στατιστικής ανάλυσης αυτών.



## **B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1**  
**«ΣΚΟΠΟΣ ΤΟΥ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ»**

Όπως αναφέρθηκε και αναπτύχθηκε αναλυτικά στο Γενικό Μέρος, το Ουρογεννητικό Σύνδρομο της Εμμηνόπαυσης αφορά πάνω από 50% των εμμηνοπαυσιακών γυναικών και καταλαμβάνει μεγαλύτερο από το ένα τρίτο της συνολικής ζωής τους. Λόγω της παθοφυσιολογίας του είναι χρόνια, διαρκώς επιδεινούμενο και έχει αρνητική επίδραση στην ποιότητα ζωής των γυναικών, στις διαπροσωπικές τους σχέσεις, στην σεξουαλική τους ζωή, στην ικανότητα να δουλέψουν και γενικότερα στην καθημερινότητα τους. Επιπλέον, δεν υπάρχει ιδανική θεραπεία για την αντιμετώπιση του. Η πλειοψηφία των γυναικών δεν λαμβάνει θεραπεία γιατί δεν θεωρούν ότι οι υπάρχουσες θεραπείες είναι αρκετά αποτελεσματικές ή ασφαλείς, ενώ οι γυναίκες που λαμβάνουν θεραπεία παρουσιάζουν μικρή συμμόρφωση και συνήθως την διακόπτουν πρόωρα λόγω φόβου καρκινογένεσης ή ανεπιθύμητων ενεργειών ή μη ανταπόκρισης των υπαρχουσών θεραπειών στις προσδοκίες τους.

Οι τεχνικές laser έχουν δοκιμαστεί εκτεταμένα από τους δερματολόγους και πλαστικούς χειρουργούς για την αντιμετώπιση των συνεπειών της εμμηνόπαυσης και της φυσικής γήρανσης του δέρματος με πολύ καλά αποτελέσματα στην επίτευξη της ανάπλασης αυτού. Για το ουρογεννητικό όμως σύνδρομο της εμμηνόπαυσης τα δεδομένα όσον αφορά την χρήση των laser είναι ελάχιστα και αφορούν μόνο την αντιμετώπιση της συμπτωματικής αιδοιοκολπικής ατροφίας και σεξουαλικής λειτουργικότητας, ενώ δεν υπάρχουν δεδομένα για τυχόν μεταβολές στα συμπτώματα από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα αλλά ούτε και για την επίδραση στην τοπική χλωρίδα του κόλπου, pH του κολπικού υγρού και δείκτη ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου. Όπως προαναφέρθηκε το pH του κολπικού υγρού και ο δείκτης ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου αποτελούν στοιχεία που επιβεβαιώνουν την διάγνωση του ουρογεννητικού συνδρόμου και συνεπώς είναι θεμελιώδη εργαλεία στην αντικειμενική εκτίμηση της επίδρασης των κολπικών θεραπειών στην αναστροφή των παθοφυσιολογικών μηχανισμών του ουρογεννητικού συνδρόμου.

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης και το επιστημονικό ερώτημα διαμορφώθηκε ακολουθώντας την «**PICO**» διαδικασία όπως ορίζεται από τις διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες. Τα αρχικά ορίζουν: «**P**» ασθενείς, πρόβλημα ή πληθυσμός (Patient, Problem or Population), «**I**» θεραπεία (Intervention), «**C**» σύγκριση (Comparison) και «**O**» αποτέλεσμα (Outcome).

Ο σκοπός λοιπόν του παρόντος ερευνητικού πρωτοκόλλου είναι η εκτίμηση της επίδρασης της κολπικής εφαρμογής του CO<sub>2</sub> laser σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με μέτριας προς σοβαρής έντασης συμπτωμάτων ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης αλλά και κλινικών σημείων όπως αυτά ορίστηκαν από την ISSWH και NAMS. Συγκεκριμένα, θα

συγκριθούν ο δείκτης ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου, ο δείκτης υγείας του κόλπου, η ένταση όλων των συμπτωμάτων του ουρογεννητικού συνδρόμου τόσο από το κατώτερο γεννητικό όσο και από το κατώτερο ουροποιητικό, η σεξουαλική υγεία και ποιότητα ζωής των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, το pH του κολπικού υγρού και η μικροβιολογική χλωρίδα του κόλπου, πριν την έναρξη του θεραπευτικού πρωτοκόλλου με τα αντίστοιχα 1 μήνα μετά την εφαρμογή 3 θεραπειών CO<sub>2</sub> laser.

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2**  
**«ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ»**

Η παρούσα μελέτη αποτελεί προοπτική μελέτη παρατήρησης που διεξήχθη στο Εξωτερικό Ιατρείο του τμήματος Ουρογυναικολογίας της Α' Μαιευτικής και Γυναικολογικής Πανεπιστημιακής Κλινικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, στο Γενικό Νοσοκομείο Αττικής (Γ.Ν.Α) «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ». Το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε από το Επιστημονικό Συμβούλιο του Γ.Ν.Α «ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ», διεξήχθη με βάση την Συνθήκη του Ελσίνκι και όλες οι γυναίκες αφού τους εξηγήθηκε αναλυτικά ο σκοπός και η διαδικασία του πρωτοκόλλου όπως και οι πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες συμπλήρωσαν έγγραφη συγκατάθεση συμμετοχής στην μελέτη πριν από την εισαγωγή τους στην μελέτη.

## 2.1 Θεραπευτικό πρωτόκολλο

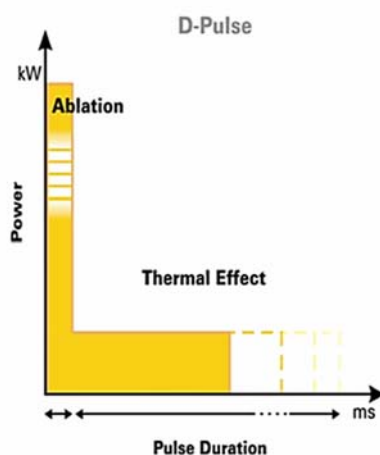
Το θεραπευτικό πρωτόκολλο περιλάμβανε 1 θεραπεία κάθε μήνα και συνολικά 3 θεραπείες όπως και στις άλλες δημοσιευμένες μελέτες [117-119]. Το μηχάνημα laser που χρησιμοποιήθηκε ήταν το laser φωτομικροεξάχνωσης κλασματικοποιημένης απελευθέρωσης δέσμης φωτός CO<sub>2</sub> [Microablative Fractional CO<sub>2</sub> laser (CO<sub>2</sub> laser)] με την εμπορική ονομασία SmartXide<sup>2</sup> V<sup>2</sup>LR, Monalisa Touch, DEKA, Florence, Italy (Εικόνα 18).



**Εικόνα 18.** Laser φωτομικροεξάχνωσης κλασματικοποιημένης απελευθέρωσης δέσμης φωτός CO<sub>2</sub> [Microablative Fractional CO<sub>2</sub> laser (CO<sub>2</sub> laser)] με την εμπορική ονομασία SmartXide<sup>2</sup> V<sup>2</sup>LR, Monalisa Touch, DEKA, Florence, Italy

Το ξεχωριστό που έχει αυτό το μηχάνημα είναι ο αποκλειστικά και ειδικά σχεδιασμένος παλμός laser της DEKA (D-pulse), ο οποίος δημιουργεί μια κορυφή στον παλμό της δέσμης φωτός ανεξαρτήτου θερμικού αποτελέσματος (Εικόνα 19). Αυτός ο παλμός προκύπτει από τον συνδυασμό δυο φάσεων. Η πρώτη φάση περιλαμβάνει υψηλής ενέργειας κορυφή παλμού ώστε να επιτευχθεί γρήγορη εξάχνωση του επιφανειακού ατροφικού ιστού με μικρή

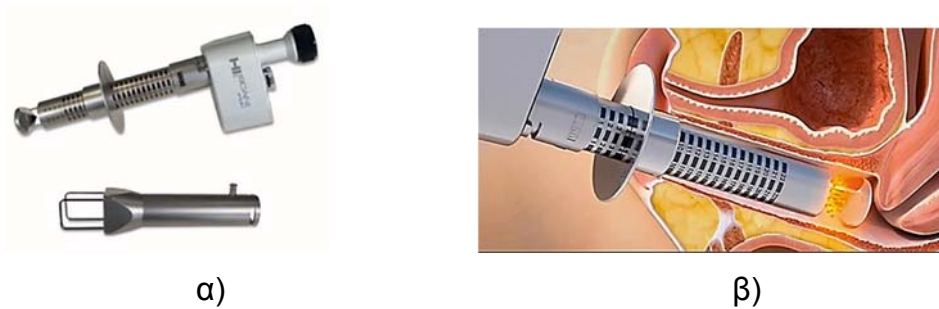
περιεκτικότητα σε νερό. Η δεύτερη διαδικασία αποτελείται από χαμηλής κορυφής ενέργεια με μεγαλύτερο χρόνο εκπομπής που επιτρέπει στην ενέργεια να διεισδύει βαθιά στον βλεννογόνο και να προάγει την νέο-κολλαγονογένεση και την παραγωγή των συστατικών της εξωκυττάριας ουσίας. Έτσι, δημιουργείται η βέλτιστη ισορροπία ανάμεσα στο μέγιστο της αποτελεσματικότητας (μέσω του σωστού βάθους διείσδυσης της ενέργειας) και την απουσία ανεπιθύμητων ενεργειών (μέσω του ελέγχου του θερμικού αποτελέσματος) και πόνου [121]. Περαιτέρω, η ασφάλεια του ιστού και η απουσία πόνου εξασφαλίζεται με την χρήση μικροδέσμης πάχους 200  $\mu\text{m}$  (dots).



**Εικόνα 19.** Ο παλμός laser της DEKA (D-pulse) με υψηλή κορυφή παλμού δέσμης φωτός ανεξαρτήτου θερμικού αποτελέσματος.

Οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν για την ενδοκολπική εφαρμογή ήταν ισχύς (power) 40watts, χρόνος διάρκειας παλμού (dwell time) 1000 $\mu\text{s}$ , διάστημα ανάμεσα στις μικροδέσμες (dot spacing) 1000 $\mu\text{m}$ , βάθος διείσδυσης (Smart Stack) με επιλογή από 1 έως 3 κατ' αντιστοιχία με τον αριθμό των θεραπειών. Οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν για την εφαρμογή στο πρόδομο και το αιδοίο ήταν power 24 watts, dwell time 400 $\mu\text{s}$ , dot spacing 1000 $\mu\text{m}$  και Smart Stack με επιλογή 1 (ίδια σε κάθε θεραπεία).

Οι κεφαλές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η 360<sup>0</sup> για ενδοκολπική χρήση η οποία έχει μπροστά καθρέφτη 45<sup>0</sup> που εξασφαλίζει την αντανάκλαση ενέργειας στο κολπικό τοίχωμα χωρίς να απελευθερώνεται ενέργεια στον τράχηλο της μήτρας και η 90<sup>0</sup> η οποία είναι ανοιχτή μπροστά και συντελεί στην θεραπεία του αιδοίου (Εικόνα 21α και 21β).



**Εικόνα 21.** α) Η ενδοκολπική κεφαλή 360<sup>ο</sup> και η εξωτερική κεφαλή 90<sup>ο</sup> που χρησιμοποιήθηκαν στο πρωτόκολλο, β) ενδοκολπική εικόνα της κεφαλής 36

## 2.2 Κριτήρια Εισαγωγής στην μελέτη

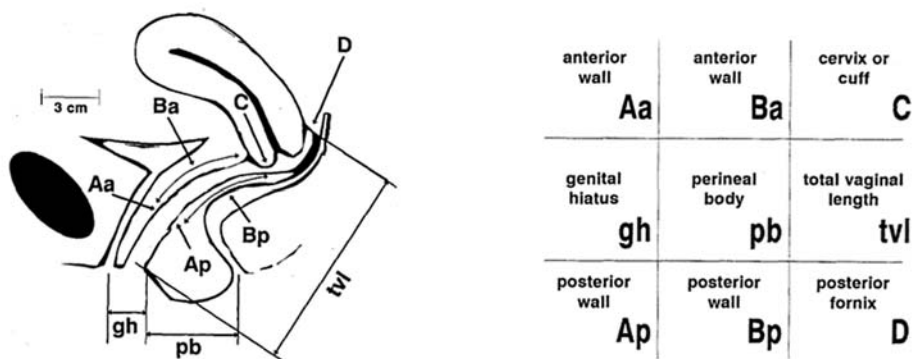
Τα κριτήρια εισαγωγής στην μελέτη περιλάμβαναν την παρουσία εμμηνόπαυσης (αμηνόρροια  $\geq 12$  μηνών) και παρουσία συμπτωμάτων και κλινικών σημείων του ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης ακολουθώντας τον ορισμό του συνδρόμου από την ISSWH και NAMS [21]. Η ενόχληση τουλάχιστον ενός από τα συμπτώματα του συνδρόμου θα έπρεπε να ήταν μέτριας προς σοβαρής έντασης ακολουθώντας την προσέγγιση του πιο ενοχλητικού συμπτώματος αιδοιοκολπικής ατροφίας (ξηρότητας ή/και δυσπαρεύνιας) [122]. Όλες οι γυναίκες θα έπρεπε να έχουν αντικειμενικά ευρήματα ουρογεννητικού συνδρόμου: 1) το ποσοστό των επιφανειακών επιθηλιακών κυττάρων στον δείκτη ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου θα έπρεπε να ήταν  $\leq 5\%$  [9] και 2) το pH του κολπικού υγρού θα έπρεπε να ήταν  $> 4.5$  [18].

## 2.3 Κριτήρια αποκλεισμού από την μελέτη

Τα κριτήρια αποκλεισμού από την μελέτη περιλάμβαναν την χρήση ορμονικής θεραπείας (συστηματικής ή τοπικής) το προηγούμενο εξάμηνο, λιπαντικών ή ενυδατικών τον προηγούμενο μήνα, την παρουσία ενεργούς λοίμωξης γεννητικών οργάνων (π.χ βακτηριακής κολπίτιδας, έρπητος γεννητικών οργάνων), ή οποιασδήποτε άλλης ασθένειας που θα μπορούσε να μην επιτρέψει την συμμόρφωση στο πρωτόκολλο και τη παρουσία πρόπτωσης πυελικών οργάνων  $\geq$  Σταδίου II όπως αυτό ορίζεται από το σύστημα ποσοτικοποίησης της πρόπτωσης πυελικών οργάνων «pelvic organ prolapse quantification (POP-Q) system» κατά το οποίο εκτιμάται η απόσταση από τα μύρτα των σημείων A<sub>a</sub>, A<sub>p</sub>, B<sub>a</sub>, B<sub>p</sub>, C ή/και D και TVL (Total Vaginal Length) (Εικόνα 22) [123]. Σύμφωνα με το POP-Q στάδιο 0 πρόπτωσης πυελικών οργάνων ορίζεται όταν η απόσταση από τα μύρτα του παρθενικού υμένα των σημείων A<sub>a</sub>, A<sub>p</sub>, B<sub>a</sub>, B<sub>p</sub>, είναι  $-3\text{cm}$  για το καθένα και των σημείων C



ή/και D είναι ανάμεσα στο -TVL (Total Vaginal Length) cm -(TVL-2)cm. Στάδιο I ορίζεται όταν το πιο περιφερικό σημείο της πρόπτωσης είναι > 1cm πάνω από τα μύρτα του περιθενικού υμένα, σταδιο II όταν το πιο περιφερικό σημείο της πρόπτωσης είναι  $\geq -1\text{cm}$  και  $\leq +1\text{cm}$ , στάδιο III όταν το πιο περιφερικό σημείο είναι  $> +1\text{cm}$  και  $< +(TVL-2)\text{cm}$  και στάδιο IV όταν έχει γίνει πλήρη εξωστροφή ( $\geq +(TVL-2)\text{cm}$ ).



**Εικόνα 22.** Σημεία που αξιολογούνται κατά το POP-Q σύστημα [(Bump et al. *Am J Obstet Gynecol* 1996 (Παραπομπή 123)].

## 2.4 Αποτελέσματα της μελέτης και διαδικασία συλλογής τους

Η διαδικασία της επιλογής των γυναικών που θα συμμετείχαν τελικά στην μελέτη περιλάμβανε ένα ερωτηματολόγιο αναλογικής κλίμακας 10 εκατοστών στο οποίο οι γυναίκες σημείωναν την ένταση ενόχλησης από τα συμπτώματα του ουρογεννητικού συνδρόμου (δυσπαρεύνια, ξηρότητα, αίσθημα κνησμού, αίσθημα καύσου, δυσουρία, συχνουρία και έπειξη προς ούρηση). Στην αναλογική κλίμακα 10 εκατοστών το αριστερό άκρο (σημείο μηδέν) αντιστοιχούσε σε «απουσία συμπτώματος» και το δεξί άκρο (σημείο δέκα) «σύμπτωμα όσο χειρότερα γίνεται». Το σημείο 4 αποτελούσε το όριο που ξεχώριζε τις γυναίκες με ήπια συμπτωματολογία από τις γυναίκες με μέτρια προς σοβαρής έντασης. Στις γυναίκες που είχαν μέτρια προς σοβαρού βαθμού συμπτώματα γινόταν κλινική εξέταση για την εκτίμηση παρουσίας κλινικών σημείων ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης και πρόπτωσης πυελικών οργάνων. Τα κλινικά σημεία που αξιολογούνταν ήταν η ωχρότητα, η ερυθρότητα, η απώλεια των κολπικών πτυχώσεων, η ακεραιότητα του κολπικού επιθηλίου και η ευθρυπτότητα του αιδοιοκολπικού ιστού [21].

Οι γυναίκες οι οποίες ήταν κατάλληλες για να συμμετάσχουν την μελέτη λάμβαναν έναν τυχαίο κωδικό που δημιουργούταν από ηλεκτρονικό υπολογιστή και καλούνταν να

υπογράφουν συγκατάθεση ενημέρωσης και συμμετοχής στην μελέτη, όπως και όλα τα ερωτηματολόγια που συμπεριλαμβάνονταν στο πρωτόκολλο. Μια εβδομάδα μετά την κλινική εξέταση και πριν την έναρξη του θεραπευτικού πρωτοκόλλου γινόταν λήψη δειγμάτων προς μικροβιολογική, κυτταρολογική και ιστολογική εξέταση. Τα δείγματα επάνω είχαν μόνο τον κωδικό που αντιστοιχούσε σε κάθε ασθενή και κανένα άλλο στοιχείο [π.χ όνομα, φάση του πρωτοκόλλου (πριν ή μετά την έναρξη των θεραπειών), δημογραφικά χαρακτηριστικά, ένταση συμπτωμάτων, παρουσία συμπτωμάτων κλπ]. Με αυτόν τον τρόπο ο μικροβιολόγος και οι κυτταρολόγοι που ανέλυαν τα δείγματα, δεν γνώριζαν κανένα στοιχείο για τις γυναίκες στις οποίες αντιστοιχούσε το δείγμα επιτυγχάνοντας αντικειμενικότητα των αποτελεσμάτων και ελάττωση του κινδύνου προκατάληψης και καθοδήγησης των αποτελεσμάτων (bias). Μάλιστα, κάθε φορά που γινόταν λήψη δείγματος δημιουργούταν διαφορετικός τυχαίος κωδικός μέσω ηλεκτρονικού υπολογιστή που θα αντιστοιχούσε στο δείγμα, με στόχο να εξασφαλιστεί ότι οι εργαστηριακοί γιατροί δεν θα μπορούσαν να μαντέψουν σε ποια φάση του πρωτοκόλλου ήταν η γυναίκα που αντιστοιχούσε το δείγμα. Όλα τα στοιχεία των γυναικών σε οποιοδήποτε φάση του πρωτοκόλλου (όνομα, δημογραφικά χαρακτηριστικά, ενόχληση συμπτωμάτων, κωδικοί κλπ) αποθηκευόντουσαν σε μια βάση δεδομένων η οποία ήταν κλειδωμένη και δεν μπορούσε να έχει κανείς πρόσβαση μέχρι να ολοκληρωθεί το πρωτόκολλο και η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης. Εάν κατά την εκτίμηση των συμπτωμάτων από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα κρινόταν απαραίτητη περαιτέρω διερεύνηση, τότε πριν την έναρξη του θεραπευτικού πρωτοκόλλου γινόταν ουροδυναμική μελέτη ή και οποιαδήποτε άλλη εξέταση χρειαζόταν.

#### 2.4.1 Πρωτεύοντα αποτελέσματα της μελέτης

Ως κύριο πρωτεύον αποτέλεσμα της μελέτης θεωρήθηκε ο **δείκτης ωριμότητας κολπικού επιθηλίου (VMV)**. Ο δείκτης ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου καθορίζεται με μικροσκοπική εξέταση από κυτταρολόγο, πλακιδίου επιστρωμένου με υλικό που λαμβάνεται με σπάτουλα από το κολπικό τοίχωμα και επεξεργάζεται με την τεχνική κατά Παπανικολάου [124]. Για τον καθορισμό του δείκτη ωριμότητας αρχικά προσδιορίζεται το ποσοστό των επιφανειακών, ενδιάμεσων και παραβασικών επιθηλιακών κυττάρων κατά την μικροσκόπηση. Στη συνέχεια, χρησιμοποιείται ο μαθηματικός τύπος  $[(1 \times \text{επιφανειακά κύτταρα } \%) + (0.5 \times \text{ενδιάμεσα κύτταρα } \%) + (0 \times \text{παραβασικά κύτταρα } \%) ]$  [124]. Δυο κυτταρολόγοι αξιολογούσαν τον δείκτη ωριμότητας και σε περίπτωση διαφοράς στα ποσοστά των επιθηλιακών κυττάρων λαμβανόταν η μέση τιμή των 2 παρατηρήσεων. Ο

δείκτης ωριμότητας θεωρείται ότι είναι δείκτης της οιστρογονικής επίδρασης στο κολπικό επιθήλιο [124]. Συγκεκριμένα, τιμές 0% - 49%, 50% - 64% και 65% - 100%, προσδιορίζουν απουσία/χαμηλή, ενδιάμεση και υψηλή οιστρογονική επίδραση, αντιστοίχως [124].

Ο δείκτης υγείας του κόλπου (VHI) θεωρήθηκε επίσης ως πρωτεύον αποτέλεσμα της μελέτης. Πρόκειται για έναν μαθηματικό αλγόριθμο ο οποίος έχει 5 παραμέτρους (ελαστικότητα, όγκος κολπικών εκκρίσεων, pH κολπικού υγρού, ακεραιότητα επιθηλίου και υγρασία), με κάθε παράμετρο να βαθμολογείται από 1 έως 5 και συνολικό σκορ με κατώτερη τιμή το 5 και ανώτερη τιμή το 25 (Πίνακας 1) [117, 119, 124, 125]. Όσο μικρότερος είναι ο δείκτης υγείας του κόλπου τόσο μεγαλύτερη είναι η ατροφία με όριο το σκορ 15 για τον διαχωρισμό του ατροφικού από του μη ατροφικού κόλπου.

**Πίνακας 1. Δείκτης υγείας του κόλπου**

Σκορ	1	2	3	4	5
<b>Ελαστικότητα</b>	Καμία	Φτωχή	Μέτρια	Καλή	Άριστη
<b>Όγκος κολπικών εκκρίσεων</b>	Απουσία	Ελάχιστη ποσότητα, δεν καλύπτεται όλος ο κόλπος	Επιφανειακή ποσότητα, καλύπτεται όλος ο κόλπος	Ενδιάμεση ποσότητα	Φυσιολογική ποσότητα
<b>pH κολπικού υγρού</b>	≥ 6.1	5.6 – 6.0	5.1 – 5.5	4.7 – 5.0	≤ 4.6
<b>Ακεραιότητα επιθηλίου</b>	παρουσία πετεχίων	ματώνει με ελάχιστη επαφή	ματώνει με το τρίψιμο	απουσία ευθρυπτότητας, λεπτό επιθήλιο	Φυσιολογική
<b>Υγρασία</b>	απουσία, ερυθρότητα βλεννογόνου	Απουσία	Μικρή	Μέτρια	Φυσιολογική

#### 2.4.2 Δευτερεύοντα αποτελέσματα της μελέτης

Ως δευτερεύοντα αποτελέσματα της μελέτης καθορίστηκαν τα ακόλουθα:

##### i) Συμπτώματα ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης

Για την ανίχνευση επίδρασης του θεραπευτικού πρωτόκολλου σε όλα τα συμπτώματα του ουρογεννητικού συνδρόμου χρησιμοποιήθηκαν ως εργαλεία ερωτηματολόγια που προτείνονται από την διεθνή βιβλιογραφία ώστε τα αποτελέσματα της μελέτης να μπορούν

να συγκριθούν με αποτελέσματα άλλων μελετών διεθνώς. Τα ερωτηματολόγια αυτά αξιολογούν την παρουσία και την βαθμό ενόχλησης των γυναικών από τα συμπτώματα και είναι ειδικά για τα συμπτώματα αιδοιοκολπικής ατροφίας, σεξουαλικής δυσλειτουργίας και κατώτερου ουροποιητικού συστήματος.

Τα συμπτώματα αδοιοκολπικής ατροφίας και η σεξουαλική υγεία των γυναικών εκτιμήθηκαν με τα ακόλουθα εργαλεία: **a)** 10 εκατοστών οπτική αναλογική κλίμακα για την εκτίμηση της έντασης ενόχλησης από την δυσπαρεΰνια, ξηρότητα, αίσθημα καύσου/κνησμού και δυσουρία, ξεχωριστά αλλά και συνολικά. Απουσία συμπτωματολογίας καθοριζόταν όταν είχε επιλεγεί ως απάντηση το αριστερό άκρο (σημείο μηδέν), ήπιου βαθμού συμπτωματολογίας όταν είχε επιλεγεί μέχρι το 4, ενώ σοβαρού βαθμού όταν είχε επιλεγεί από 8 και πάνω, **b)** συχνότητα σεξουαλικών επαφών ανά μήνα, **c)** 10 εκατοστών αναλογική κλίμακα έντασης πόνου κατά την εισαγωγή του κολποδιαστολέα, όπου το αριστερό άκρο (μηδέν) όριζε «απουσία πόνου» και το δεξί άκρο (10) «πόνος όσο μεγαλύτερος μπορεί να είναι» **d)** Δείκτης γυναικείας σεξουαλικής λειτουργικότητας με διεθνή ονομασία «Female Sexual Function Index (FSFI)» το οποίο περιέχει 6 τομείς που αντιστοιχούν στην επιθυμία, έξαψη, εφύγρανση, οργασμό, ικανοποίηση και πόνο κατά την σεξουαλική επαφή [126]. Ο συνδυασμός αυτών των τομέων δίνει ένα συνολικό σκορ με μικρότερη τιμή το 2 και μεγαλύτερη το 36. Αύξηση του συνολικού σκορ προσδιορίζει βελτίωση της σεξουαλικής υγείας, ενώ το όριο 26.55 ξεχωρίζει τις γυναίκες με φυσιολογική σεξουαλική υγεία από εκείνες με σεξουαλική δυσλειτουργία [127] **e)** 10 εκατοστών αναλογική κλίμακα συνολικής ικανοποίησης από την σεξουαλική ζωή.

Τα συμπτώματα από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα των γυναικών εκτιμήθηκαν με τα ακόλουθα εργαλεία [128, 129]: **a)** Ελληνική πιστοποιημένη εκδοχή του ερωτηματολογίου της Διεθνούς Διαβούλευσης για το ερωτηματολόγιο ακράτειας – γυναικεία συμπτώματα ουροποιητικού συστήματος με διεθνή ονομασία «International Consultation on Incontinence Questionnaire (ICIQ)-Female Urinary Tract Symptoms (ICIQ-FLUTS Filling Domain)», το οποίο περιλαμβάνει ερωτήσεις που σχετίζονται με την συχνουρία, νυκτουρία, απότομη επιθυμία προς ούρηση και πόνο στην ουροδόχο κύστη. Οι πιθανές απαντήσεις που περιλαμβάνει για την συχνότητα ούρησης κατά την διάρκεια της ημέρας είναι «από 1 έως 6», «7 με 8», «9 με 10», «11 με 12» και «≥ από 13» φορές. Οι πιθανές απαντήσεις για την συχνότητα ούρησης κατά την διάρκεια της νύχτας είναι «καμία», «μια», «δύο», «τρεις», «πάνω από τέσσερις», ενώ για την έπείξη προς ούρηση ή τον πόνο στην κύστη «ποτέ», «περιστασιακά», «μερικές φορές», «τις περισσότερες φορές» και «όλη την ώρα». Κάθε απάντηση λαμβάνει βαθμολόγηση από 0 έως 4 με το άθροισμα τους να δίνει συνολική

βαθμολόγηση για την αποθήκευση των ούρων. Όσο μεγαλύτερη είναι η βαθμολόγηση τόσο μεγαλύτερο είναι το πρόβλημα. Η παρουσία συχνουρίας υποδηλώνεται όταν η συχνότητα ούρησης κατά την διάρκεια της ημέρας ήταν  $\geq 9$  φορές, ενώ η παρουσία νυκτουρίας όταν η συχνότητα ήταν  $>1$  φορές κατά την διάρκεια της νύχτας. **b)** Σύντομη έκδοση του ερωτηματολογίου ακράτειας ούρων με διεθνή ονομασία «ICIQ - Urinary Incontinence Short Form (ICIQ-UI SF)», που περιλαμβάνει 4 ερωτήσεις σχετικά με την συχνότητα ακράτειας ούρων, την ποσότητα των ούρων που διαφεύγουν, τον τρόπο κατά τον οποίο συμβαίνει η ακράτεια των ούρων και τον βαθμό ενόχλησης από την ακράτεια ούρων με 10-βαθμών αναλογική κλίμακα. Η βαθμολόγηση προκύπτει από το άθροισμα των 3 ερωτήσεων με κατώτερη βαθμολόγηση το «0» και ανώτερη το «21». Όσο μεγαλύτερο είναι το σκορ τόσο μεγαλύτερο είναι το πρόβλημα ακράτειας ούρων, ενώ όριο 2.52 αποτελεί την ελάχιστη μείωση ώστε να γίνει αντιληπτή κλινικής σημασίας βελτίωση από τους ασθενείς [130], **c)** Ελληνική πιστοποιημένη εκδοχή της καταγραφής ουρογεννητικής ενόχλησης με διεθνή ονομασία «Urogenital Distress Inventory (UDI-6)» που περιλαμβάνει 6 ερωτήσεις και ανιχνεύει την παρουσία (με «ναι» ή «όχι») συχνουρίας, επιτακτικού τύπου ακράτειας, ακράτειας εκ προσπαθείας, απώλειας σταγόνων ούρων, δυσκολίας ούρησης και πόνου χαμηλά στην κοιλία ή στα γεννητικά όργανα αλλά και την ένταση ενόχλησης από την παρουσία τους με απαντήσεις ποικίλουν από «καθόλου» έως «πολύ». Κάθε μια απάντηση λαμβάνει βαθμολόγηση από 1 έως 4 και τελικά προκύπτει μια συνολική βαθμολόγηση χρησιμοποιώντας τον μαθηματικό τύπο όπου αθροίζονται τα σκορ, διαιρούνται δια του 6 και το αποτέλεσμα πολλαπλασιάζεται με το 25. Έτσι η συνολική βαθμολόγηση έχει όρια από «0» έως «100» με το «100» να υποδηλώνει την χειρότερη βαθμού ενόχληση από τα συμπτώματα.

## ii) Ποιότητα ζωής

Για τον ανίχνευση της επίδρασης των laser θεραπειών στην ποιότητα ζωής των γυναικών χρησιμοποιήθηκε ένα γενικό ερωτηματολόγιο ποιότητας ζωής το 12 ερωτήσεων σύντομη φόρμα έρευνας με διεθνή ονομασία «12-item Short Form Survey (SF-12)» και ένα ειδικό ερωτηματολόγιο για την ποιότητα ζωής γυναικών με ακράτεια ούρων την ελληνική εκδοχή του Βασιλικού Ερωτηματολογίου Υγείας με διεθνή ονομασία «King's Health Questionnaire (KHQ)» [131, 132]. Το SF-12 περιλαμβάνει ερωτήσεις που εκτιμούν την γενικότερη υγεία των γυναικών ανεξαρτήτου πάθησης, εάν μπορούν δηλαδή να ανέβουν σκάλες, να σκουπίσουν, να μετακινήσουν έπιπλα, να εργαστούν εκτός σπιτιού, να κάνουν όλα όσα επιθυμούν τόσο από φυσικής άποψης όσο και από ψυχολογικής άποψης, εάν πονάνε και

κατά πόσο αυτός ο πόνος επηρεάζει την λειτουργικότητα τους, εάν νιώθουν ήρεμες και με αρκετή ενέργεια, εάν νιώθουν κατάθλιψη και κατά πόσο τα θέματα φυσικής κατάστασης και ψυχικής υγείας επηρεάζουν την κοινωνικότητα τους. Περιλαμβάνει λοιπόν την εκτίμηση της φυσικής (PCS-12) και ψυχικής κατάστασης (MCS-12) των γυναικών. Όσο μικρότερη βαθμολογία λαμβάνει τόσο χειρότερη είναι η φυσική ή/και ψυχολογική κατάσταση των γυναικών. Το KHQ περιλαμβάνει 3 τομείς που εκτιμούν κατά πόσο το πρόβλημα της ακράτειας ούρων παρεμβαίνει στην ζωή των γυναικών. Τα 2 πρώτα τμήματα τα οποία συντελούν στην δημιουργία της συνολικής βαθμολόγησης εκτιμούν την υγεία της γυναίκας, τον περιορισμό της φυσικής, κοινωνικής, προσωπικής και συναισθηματικής της κατάστασης, την καθημερινή της δραστηριότητα/ενέργεια και την ικανότητα της να κοιμηθεί, ενώ το τρίτο τμήμα που δεν περιλαμβάνεται στην βαθμολόγηση εκτιμάει το βαθμό ενόχλησης από τα συμπτώματα του κατώτερου ουροποιητικού συστήματος. Μάλιστα, έχει οριστεί ότι η μεταβολή  $\geq 5$  σε κάθε τομέα εκλαμβάνεται από τους ασθενείς ως κλινικά σημαντική (MID) [133].

### **iii) Η άποψη των γυναικών για την θεραπεία**

Προκειμένου να εκτιμηθεί η άποψη των ασθενών για την θεραπεία χρησιμοποιήθηκαν 2 ερωτήσεις όπου η μία εκτιμούσε την ικανοποίηση των ασθενών από την θεραπεία και η άλλη την προσωπική τους άποψη όσον αφορά την βελτίωση των συμπτωμάτων συνολικά [Patient Global Impression of Improvement (PGI-I)]. Οι πιθανές απαντήσεις για την ικανοποίηση από την θεραπεία ήταν «πολύ ικανοποιημένη», «ικανοποιημένη», «αβέβαιη», «δυσανεστημένη» και «πολύ δυσανεστημένη». Ικανοποίηση με την θεραπεία οριζόταν όταν οι απαντήσεις ήταν «ικανοποιημένη» και «πολύ ικανοποιημένη». Σύμφωνα με την ανάλυση πρόθεση θεραπείας, εκείνες οι γυναίκες που δεν μπορούσαν να ανεχθούν την είσοδο της laser κεφαλής λόγω του βαθμού ατροφίας και/ή κολπικής στένωσης είχε οριστεί να θεωρούνται «πολύ δυσανεστημένες». Οι πιθανές απαντήσεις στην PGI-I ερώτηση ήταν «πάρα πολύ καλύτερα», «πολύ καλύτερα», «λίγο καλύτερα», «καμία αλλαγή», «λίγο χειρότερα», «πολύ χειρότερα» και «πάρα πολύ χειρότερα».

### **iv) pH του κολπικού υγρού**

Το pH του κολπικού υγρού προσδιοριζόταν με τοποθέτηση δεικτών pH (MColorpHast™, Merck, Germany) στο οπίσθιο κολπικό τοίχωμα. Η τεχνική που ακολουθήθηκε ήταν αρχικά τοποθέτηση αποστειρωμένου κολποδιαστολέα και στη συνέχεια με αποστειρωμένη λαβίδα τοποθέτηση του δείκτη pH στο οπίσθιο κολπικό τοίχωμα [124].

## ν) Μικροβιολογική χλωρίδα του κόλπου

Πριν οποιαδήποτε άλλη διαδικασία (λήψη κυτταρολογικού δείγματος ή προσδιορισμού του pH του κολπικού υγρού) γινόταν η λήψη με αποστειρωμένο στυλέο κολπικού υγρού το οποίο έμπαινε σε κατάλληλο υγρό μεταφοράς (Stuart). Εν συνεχεία γινόταν ο προσδιορισμός του pH του κολπικού υγρού, η λήψη εκπλύματος κόλπου προς άμεση μικροσκοπήση και μετά οποιαδήποτε άλλη διαδικασία συμπεριλαμβανόταν στο πρωτόκολλο.

Αρχικά γινόταν επίστρωση σε πλακάκι δείγματος κολπικού υγρού προς προσδιορισμό υπό άμεση μικροσκοπήση *Trichomonas vaginalis* και είδη *Candida*. Αυτό το πλακάκι υφίστατο επεξεργασία με χρώση κατά Gram. Επιπλέον, γινόταν καλλιέργεια κολπικού υγρού με χρήση μέσων καλλιέργειας το MacConkey άγαρ, άγαρ αίματος, Sabouraud άγαρ δεξτρόζης και σοκολατοειδές άγαρ με στόχο ανάπτυξη βακτηρίων με πιθανό κλινικό αντίκτυπο (π.χ αερόβια κολπίτιδα [134], ουρολοιμώξεις, μυκητιασική κολπίτιδα κλπ). Τα *Mycoplasma*, *Ureoplasma* ή/και είδη *corynebacterium* δεν συμπεριλαμβάνονταν στην μικροβιολογική εξέταση της χλωρίδας. Για τον προσδιορισμό της παρουσίας γαλακτοβακίλλων, *Mobiluncus*, *Gardnerella* και *Bacteroides* στο κολπικό υγρό χρησιμοποιούταν μόνο η χρώση κατά Gram και δεν γινόταν περαιτέρω επεξεργασία με καλλιέργειες. Ως επικρατέστερος μικροοργανισμός ορίστηκε ως το μοναδικό βακτήριο που ήταν προεξάρχον όλων των μακροσκοπικά αντιληπτών μικροβίων στην χρώση κατά Gram. Τα βακτήρια που δεν μπορούσαν να ταυτοποιηθούν στην χρώση κατά Gram κατηγοριοποιούνταν γενικά ως θετικά ή αρνητικά κατά Gram χρώση (gram - positive ή gram - negative, αντιστοίχως). Η κολπική χλωρίδα εκτιμήθηκε με την χρησιμοποίηση του σκορ κατά Nugent και των κριτηρίων κατά Hay-Ison, ακολουθώντας τις Ευρωπαϊκές κατευθυντήριες οδηγίες για την διάγνωση και αντιμετώπιση της κολπικής έκκρισης [134 – 137].

Σύμφωνα με το σκορ κατά Nugent, οι μορφότυποι προσδιορίζονται με το μέσον όρο του αριθμού τους κατά οπτικό πεδίο. Έτσι, κάθε μορφότυπος μπορεί να λάβει σκορ 0 (όταν δεν υπάρχει), 1 (όταν η παρουσία του είναι <1), 2 (όταν είναι από 1 έως 4), 3 ( από 5 έως 30) και 4 ( $\geq 30$ ) (Εικόνα 23). Το συνολικό σκορ δημιουργείται από το άθροισμα του σκορ των γαλακτοβακίλλων, *Gardnerella* και *Bacteroides* μορφοτύπων όπως και των καμπυλόγραμμων μεταβλητών κατά Gram βακτηρίων. Φυσιολογική χλωρίδα ορίζεται όταν το συνολικό Nugent σκορ είναι από 0 έως 3, ενδιάμεση χλωρίδα όταν το σκορ είναι από 4 έως 6 και βακτηριακή κολπίτιδα όταν είναι από 7 και πάνω [136].

Score <sup>a</sup>	Lactobacillus morphotypes	<i>Gardnerella</i> and <i>Bacteroides</i> spp. morphotypes	Curved gram-variable rods
0	4+	0	0
1	3+	1+	1+ or 2+
2	2+	2+	3+ or 4+
3	1+	3+	
4	0	4+	

**Εικόνα 23.** Σκορ των γαλακτοβακίλλων, *Gardnerella* και *Bacteroides* μορφοτύπων όπως και των καμπυλόγραμμων μεταβλητών κατά Gram βακτηρίων [Nugent et al. *J Clin Microbiol* 1991 (παραπομπή 136)].

Σύμφωνα με τα κριτήρια Hay-Ison η κολπική χλωρίδα διακρίνεται σε Grade 0 όπου δεν υπάρχουν γαλακτοβάκιλλοι παρά μόνο επιθηλιακά κύτταρα, Grade 1 (φυσιολογική χλωρίδα) όπου επικρατούν οι γαλακτοβάκιλλοι, Grade 2 (ενδιάμεση) όπου υπάρχουν γαλακτοβάκιλλοι αλλά υπάρχουν και *Gardnerella* ή *Mobiluncus* μορφότυποι, Grade 3 (Βακτηριακή Κολπίτιδα) όπου επικρατούν η *Gardnerella* ή/και *Mobiluncus* μορφότυποι με παρουσία «clue cells» και απουσία ή λίγους γαλακτοβακίλλους και Grade 4 (Αερόβια κολπίτιδα) που δεν συσχετίζεται με βακτηριακή κολπίτιδα, υπάρχουν όμως μόνο Gram + κόκκοι και απουσία γαλακτοβακίλλων [137].

Τα φυσιολογικά κύτταρα και τα λευκοκύτταρα τα οποία ανευρισκόντουσαν στην χρώση κατά Gram αξιολογούνταν κατά τρόπο ανάλογο με τους βακτηριακούς μορφότυπους χρησιμοποιώντας δηλαδή τις αρχές του Nugent οπότε και λάμβαναν σκορ 0, 1, 2, 3 και 4. Όταν ανευρισκόταν κολπίτιδα με μικροβιολογικά κριτήρια χωρίς την παρουσία αντίστοιχων κλινικών σημείων και συμπτωμάτων δεν δινόταν φαρμακευτική αντιμετώπιση ακολουθώντας τις οδηγίες του « Centers for Disease Control and Prevention Guidelines» [138].

## 2.5 Στατιστική ανάλυση

Οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με ανάλυση πρόθεση θεραπείας (ITT) και συγκρίνοντας τα αποτελέσματα πριν την έναρξη των θεραπειών και στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης (1 μήνα μετά την 3<sup>η</sup> θεραπεία). Όσον αφορά το pH του κολπικού υγρού και την μικροβιολογική χλωρίδα θεωρήθηκε σημαντικό να γίνουν 2 επιπλέον συγκρίσεις με δεδομένα στις 4 εβδομάδες παρακολούθησης (1 μήνα μετά την 1<sup>η</sup> θεραπεία) και στις 8



εβδομάδες παρακολούθησης (1 μήνα μετά την 2<sup>η</sup> θεραπεία). Ο εκ των προτέρων καθορισμός του κατάλληλου δείγματος συμμετεχόντων στο πρωτόκολλο υπολογίστηκε με βάση τα πρωτεύοντα αποτελέσματα ώστε να επιτευχθεί δύναμη της μελέτης 90% (power of the study), επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας 5% και μέγεθος επίδρασης (effect size) των θεραπειών laser στον κόλπο όπως έχει δημοσιευτεί σε προηγούμενη πιλοτική μελέτη [117]. Στην προηγούμενη μελέτη δεδομένα για το μέγεθος επίδρασης του laser υπήρχαν μόνο για τον δείκτη υγείας του κόλπου με προκύπτον αριθμό συμμετεχόντων πολύ μικρό. Ο κατάλληλος λοιπόν αριθμός δείγματος των γυναικών που χρειάζονταν για να συμμετάσχουν στο θεραπευτικό πρωτόκολλο ορίστηκε με βάση τον δείκτη ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου χρησιμοποιώντας υποθετικό μέγεθος επίδρασης λόγω της απουσίας δημοσιευμένων σχετικών δεδομένων στην διεθνή βιβλιογραφία. Έτσι, για δύναμη της μελέτης 90%, επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας 5% και υποθετικό μέγεθος επίδρασης στον δείκτη ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου 0.5 που αντιστοιχεί σε ενδιάμεσο μέγεθος επίδρασης, χρειαζόνταν 47 ασθενείς. Επιτρέποντας 10% από τους ασθενείς να παραιτηθούν από το πρωτόκολλο τότε τουλάχιστον 52 ασθενείς ήταν απαραίτητο να συμμετάσχουν στο πρωτόκολλο. Ο εκ των υστέρων (post-hoc) υπολογισμός της δύναμης της μελέτης και το μέγεθος επίδρασης των θεραπειών laser πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το στατιστικό λογισμικό «G-power». Η ερμηνεία του μεγέθους επίδρασης της θεραπείας πραγματοποιήθηκε με βάση το Cohen's d. Οι οριακές τιμές ερμηνείας του μεγέθους είναι 0.2, 0.5 και 0.8 όπου καθορίζουν το μικρό, μέτριο και μεγάλο μέγεθος επίδρασης, αντιστοίχως. Η κατανομή των συνεχών μεταβλητών καθορίστηκε σε κανονική και μη κανονική με βάση το Shapiro-Wilk test. Για την ανάλυση των συνεχών μεταβλητών με μη κανονική κατανομή χρησιμοποιήθηκε το Wilcoxon signed-rank test για εξαρτώμενα ζεύγη και το Spearman correlation coefficient. Οι κατηγορικές μεταβλητές αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας το  $\chi^2$  test. Αναλύσεις λογιστικής παλινδρόμησης (logistic regressions) πραγματοποιήθηκαν στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης ορίζοντας ως εξαρτώμενες μεταβλητές την παρουσία ή απουσία συμπτωμάτων και τις κατώτερες οριακές τιμές «49», «15» και «4.5» για τον δείκτη ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου, τον δείκτη υγείας του κόλπου και το pH του κολπικού υγρού, αντιστοίχως. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας που χρησιμοποιήθηκε ήταν το 5% (p-value < 0.05). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως mean  $\pm$  standard deviation (SD) και ως ποσοστά (%). Το SPSS στατιστικό λογισμικό χρησιμοποιήθηκε για όλες τις αναλύσεις.

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3**  
**«ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ»**

Πενήντα τρεις γυναίκες πληρούσαν τα κριτήρια εισαγωγής στην μελέτη με μέση ηλικία  $57.2 \pm 5.4$ . Το μεγαλύτερο ποσοστό των γυναικών ήταν έγγαμες (85%), είχαν φυσιολογική εμμηνόπαυση (77%), δήλωναν μη καπνίστριες (70%) και δεν είχαν σεξουαλικές επαφές (53%). Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των γυναικών κατά την εισαγωγή στην μελέτη παρουσιάζονται στο Πίνακα 2. Όλες οι γυναίκες ολοκλήρωσαν το θεραπευτικό πρωτόκολλο χωρίς σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες. Η μόνη ανεπιθύμητη ενέργεια που παρατηρήθηκε ήταν μικρή ενόχληση στην είσοδο του κόλπου η οποία εμφανιζόταν αμέσως μετά την θεραπεία και παρουσίαζε αυτόματη λύση μέσα στο επόμενο δίωρο.

**Πίνακας 2. Δημογραφικά χαρακτηριστικά των γυναικών κατά την εισαγωγή στην μελέτη**

Αριθμός γυναικών (n)	53
<b>Ηλικία</b>	$57.2 \pm 5.4^*$
<b>Δείκτης μάζας σώματος</b>	$26.0 \pm 4.8^*$
<b>Έτη από την τελευταία εμμηνορρουσία</b>	$8.9 \pm 6.6$
<b>Μορφωτικό επίπεδο</b>	
Ακαδημαϊκό	42/53 (79)
Δευτεροβάθμιο	11/53 (21)
<b>Καπνίστριες</b>	
Ναι	16/53 (31)
Όχι	37/53 (70)
<b>Αριθμός τσιγάρων/ημέρα</b>	$13.9 \pm 6.8^*$
<b>Έγγαμος βίος</b>	
Ναι	45/53 (85)
Όχι	8/53 (15)
<b>Σεξουαλική δραστηριότητα</b>	
Ναι	25/53 (47)
Όχι	28/53 (53)
<b>Αιτίες αποχής από την σεξουαλική ζωή</b>	
Αιδοιοκολπικά συμπτώματα	16/28 (57)
Απουσία συντρόφου	7/28 (25)
Άλλες	5/28 (18)

\*Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως mean  $\pm$  SD. Όλα τα υπόλοιπα δεδομένα παρουσιάζονται ως κλάσματα (%).

### 3.1 Πρωτεύοντα αποτελέσματα της μελέτης

Ο δείκτης ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου όπως και ο δείκτης υγείας του κόλπου εμφάνισαν στατιστικά σημαντική βελτίωση (Πίνακας 3). Κατά την εισαγωγή στην μελέτη όλες

οι γυναίκες είχαν ατροφικές τιμές τόσο στον δείκτη ωριμότητας (VMV < 49%) όσο και στον δείκτη υγείας του κόλπου (VHI < 15). Στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης ο δείκτης ωριμότητας κολπικού επιθηλίου έλαβε τιμές > 49% στις 30 από τις 53 γυναίκες (57%), ενώ ο δείκτης υγείας κόλπου έλαβε τιμές >15 στις 47 από τις 53 γυναίκες (89%). Οι γυναίκες που δεν ξεπέρασαν το όριο της ατροφίας σημείωσαν βελτίωση από 10% έως 40% και από 57% έως 180% στον δείκτη ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου και δείκτη υγείας του κόλπου, αντιστοίχως. Κατά την εισαγωγή στην μελέτη ο δείκτης ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου συσχετιζόταν με τα χρόνια από την τελευταία εμμηνορροσία ( $r = -0.4$ ,  $p = 0.003$ ). Αυτή η συσχέτιση στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης έπαψε να παρατηρείται.

**Πίνακας 3. Αλλαγές στα πρωτεύοντα αποτελέσματα της μελέτης**

	Πριν την έναρξη των θεραπειών (n=53)	12 εβδομάδες παρακολούθηση (n=53)	Μέση τιμή της διαφοράς (n=53)	p-value	Μέγεθος της επίδρασης	Δύναμη της μελέτης
<b>Δείκτης ωριμότητας κολπικού επιθηλίου (Συνολικό σκορ)</b>	11.7 ± 15.6	44.2 ± 13.7	32.4 ± 15.2	<b>&lt;0.001</b>	2.1	100%
Παραβασικά κύτταρα	74.6 ± 31.6	16.2 ± 23.9	-57.6 ± 29.9	<b>&lt;0.001</b>	1.9	100%
Ενδιάμεσα κύτταρα	24.6 ± 31.7	80.0 ± 23.4	55.6 ± 30.6	<b>&lt;0.001</b>	1.8	100%
Επιφανειακά κύτταρα	0 ± 0	3.3 ± 4.9	3.3 ± 4.9	<b>&lt;0.001</b>	0.7	100%
<b>Δείκτης υγείας κόλπου (Συνολικό ακορ)</b>	8.4 ± 2.5	20.1 ± 3	11.6 ± 2.9	<b>&lt;0.001</b>	4	99%
Ελαστικότητα	1.6 ± 0.8	4.2 ± 0.9	2.6 ± 0.9	<b>&lt;0.001</b>	2.9	100%
Όγκος εκκρίσεων	1.0 ± 0	3.1 ± 0.9	2.1 ± 0.9	<b>&lt;0.001</b>	2.3	100%
pH κολπικού υγρού*	2.7 ± 1.1	4.2 ± 1.7	1.5 ± 1.0	<b>&lt;0.001</b>	1.5	100%
Ακεραιότητα επιθηλίου	1.3 ± 0.9	4.1 ± 1.7	2.8 ± 1.8	<b>&lt;0.001</b>	1.6	100%
Υγρασία	1.8 ± 1.2	3.1 ± 0.9	2.7 ± 1.2	<b>&lt;0.001</b>	2.3	100%

\*Οι τιμές του pH του κολπικού υγρού προκύπτουν από την βαθμολόγηση σύμφωνα με τον δείκτη υγείας του κόλπου και δεν είναι οι πραγματικές τιμές του pH.

## 3.2 Δευτερεύοντα αποτελέσματα

### 3.2.1 Συμπτώματα ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης

Η δυσπαρεύνια, η ξηρότητα, το αίσθημα καύσου/κνησμού, η δυσουρία και συνολικά τα συμπτώματα όπως αυτά εκτιμήθηκαν με την 10 εκατοστών αναλογική κλίμακα εμφάνισαν στατιστικά σημαντική βελτίωση (Πίνακας 4). Πριν την έναρξη των θεραπειών η παρουσία σοβαρής και μετρίας έντασης συμπτωμάτων αδοιοκολπικής ατροφίας εμφανιζόταν σε 26 από τις 53 γυναίκες (49%) και σε 27 από τις 53 (51%), αντιστοίχως. Στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης απουσία συμπτωμάτων παρατηρήθηκε σε 18 από τις 53 (34%) γυναίκες, ενώ παρουσία σοβαρής, μέτριας και ήπιας έντασης συμπτωμάτων εμφανιζόταν σε 1 από τις 53 (2%), 7 από τις 53 (13%), και 27 από τις 53 (51%), αντιστοίχως. Οι 8 γυναίκες που εξακολουθούσαν να εμφανίζουν μέτριας και σοβαρής εντάσεως συμπτωματολογία στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης, είχαν σοβαρής έντασης συμπτωματολογία πριν την έναρξη του θεραπευτικού πρωτοκόλλου και σημείωσαν βελτίωση που κυμαινόταν από 20% έως 60%.

Πίνακας 4. Αλλαγές στα συμπτώματα αδοιοκολπικής ατροφίας

	Πριν την έναρξη των θεραπειών (n=53)*	12 εβδομάδες παρακολούθηση (n=53)*	Μέση τιμή των διαφορών (n=53)	p-value	Μέγεθος της επίδρασης	Δύναμη της μελέτης
<b>Δυσπαρεύνια</b>	7.7 ± 2.5	2.3 ± 2.2	-5.4 ± 2.6	<b>&lt;0.001</b>	2.1	100%
<b>Ξηρότητα</b>	6.1 ± 3.1	1.7 ± 1.9	-4.3. ± 2.9	<b>&lt;0.001</b>	1.5	100%
<b>Αίσθημα καύσου</b>	1.3 ± 2.9	0.3 ± 0.9	-1.1 ± 2.4	<b>0.003</b>	0.5	94%
<b>Αίσθημα κνησμού</b>	1.7 ± 3.2	0.3 ± 0.9	-1.6 ± 3.1	<b>0.002</b>	0.5	94%
<b>Δυσουρία</b>	0.9 ± 1.7	0.3 ± 0.7	-0.7 ± 1.1	<b>0.01</b>	0.6	98%
<b>Συνολικά</b>	7.4 ± 2.1	1.8 ± 1.8	-5.6 ± 1.9	<b>&lt;0.001</b>	3	100%
<b>Πόνος κατά την εισαγωγή του κολποδιαστολέα</b>	4.9 ± 2.6	1.5 ± 1.9	-3.4 ± 2.7	<b>&lt;0.001</b>	1.3	100%

\* Η δυσπαρεύνια υπολογίστηκε με βάση των αριθμό των γυναικών που είχαν ή ήθελαν να έχουν σεξουαλικές επαφές (n=40).

Ο δείκτης σεξουαλικής υγείας (FSFI) των γυναικών βελτιώθηκε με στατιστικά σημαντικό τρόπο τόσο σαν συνολική βαθμολόγηση όσο και σαν ξεχωριστή βαθμολόγηση σε κάθε τομέα που περιλαμβάνει (Πίνακας 5). Οι 15 από τις 16 γυναίκες που είχαν διακόψει τις σεξουαλικές επαφές πριν την εισαγωγή στην μελέτη λόγω συμπτωμάτων του ουρογεννητικού συνδρόμου ξεκίνησαν να έχουν και πάλι σεξουαλικές επαφές. Η γυναίκα η οποία δεν έκανε επανέναρξη της σεξουαλικής της ζωής ήταν για προσωπικούς λόγους. Η συχνότητα των σεξουαλικών επαφών ανά μήνα αυξήθηκε σημαντικά από  $1.6 \pm 2.1$  πριν την έναρξη του πρωτοκόλλου σε  $4.1 \pm 2.1$  στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης ( $p < 0.001$ ), με μέγεθος επίδρασης του laser 1.5.

**Πίνακας 5. Αλλαγές στον Δείκτη Σεξουαλικής Υγείας και στην Συνολική Ικανοποίηση από την σεξουαλική ζωή των γυναικών.**

	Πριν την έναρξη των θεραπειών (n=40)*	12 εβδομάδες παρακολούθηση (n=40)*	Μέση τιμή των διαφορών (n=40)	p-value	Μέγεθος της επίδρασης	Δύναμη της μελέτης
<b>FSFI*</b>						
Επιθυμία	2.4 ± 0.9	3.8 ± 1.0	1.5 ± 1.0	<b>&lt;0.001</b>	1.5	100%
Έξαψη	2.1 ± 1.5	3.9 ± 0.9	1.7 ± 1.4	<b>&lt;0.001</b>	1.2	100%
Λίπανση	2.5 ± 1.9	4.5 ± 0.9	2.0 ± 1.6	<b>&lt;0.001</b>	1.3	100%
Οργασμός	2.2 ± 1.8	4.4 ± 1.0	2.2 ± 1.7	<b>&lt;0.001</b>	1.3	100%
Ικανοποίηση	2.6 ± 1.3	4.6 ± 0.9	1.9 ± 1.4	<b>&lt;0.001</b>	1.3	100%
Πόνος	1.9 ± 1.6	4.7 ± 1.0	2.8 ± 1.8	<b>&lt;0.001</b>	1.6	100%
Συνολικό σκορ	13.7 ± 8.1	25.9 ± 4.6	12.1 ± 8.1	<b>&lt;0.001</b>	1.5	100%
<b>Συνολική ικανοποίηση από την σεξουαλική ζωή</b>	2.3 ± 2.8	6.5 ± 2.3	3.5 ± 3.6	<b>&lt;0.001</b>	1	100%

\*FSFI: Female Sexual Function Index (Δείκτης σεξουαλικής υγείας); Το FSFI υπολογίστηκαν με βάση των αριθμό των γυναικών που είχαν ή ήθελαν να έχουν σεξουαλικές επαφές (n=40).

Τα συμπτώματα από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα βελτιώθηκαν σημαντικά όπως αντανακλάται από την στατιστικά σημαντική μείωση που σημειώθηκε στα σκορ ICIQ-FLUTS, ICIQ-UI SF και UDI-6 (Πίνακας 6). Πριν την έναρξη των θεραπειών 21 από τις 53 (40%) γυναίκες, 18 από τις 53 (34%), 12 από τις 53 (23%) και 2 από τις 53 (4%) δήλωναν συχνότητα ούρησης 1-6, 7-8, 9-10 και  $\geq 13$  φορές την ημέρα, αντιστοίχως. Στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης 25 από τις 53 (47%) γυναίκες, 25 από τις 53 (47%), 2 από τις

53 (4%) και 1 από τις 53 (2%) δήλωναν συχνότητα ούρησης 1-6, 7-8, 9-10 και  $\geq 13$  φορές την ημέρα, αντιστοίχως. Ιστορικό υποτροπιαζόντων επεισοδίων ουρολοίμωξης υπήρχε σε 2 από τις 53 (4%) γυναίκες. Συμπτώματα ουρολοίμωξης δεν αναφέρθηκαν κατά τη διάρκεια του πρωτοκόλλου σε καμία από τις γυναίκες που συμμετείχαν.

**Πίνακας 6. Αλλαγές στα συμπτώματα από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα.**

	Πριν την έναρξη των θεραπειών	12 εβδομάδες παρακολούθηση	Μέση τιμή των διαφορών	p-value	Μέγεθος της επίδρασης	Δύναμη της μελέτης
<b>ICIQ-FLUTS (n=53) (Filling Domain)</b>	3.6 ± 2.4	1.6 ± 1.5	2.0 ± 1.6	<b>&lt;0.001</b>	1.3	100%
Συχνουρία	0.9 ± 0.9	0.6 ± 0.7	0.4 ± 0.5	<b>&lt;0.001</b>	0.8	99%
Νυκτουρία	1.3 ± 1.0	0.6 ± 0.7	0.7 ± 0.6	<b>&lt;0.001</b>	1.2	100%
Έπειξη προς ούρηση	1.2 ± 1.0	0.3 ± 0.5	0.9 ± 0.8	<b>&lt;0.001</b>	1.1	100%
Πόνος στην ουροδόχο κύστη	0.2 ± 0.6	0.08 ± 0.3	0.2 ± 0.5	<b>0.02</b>	0.4	80%
<b>ICIQ-UI SF (n=35)</b>	8.1 ± 5.6	3.4 ± 4.3	4.7 ± 4.1	<b>&lt;0.001</b>	1.1	100%
<b>UDI-6 (n=35)</b>	30.2 ± 21.4	11.9 ± 16.6	18.3 ± 17.9	<b>&lt;0.001</b>	1	100%
Συχνουρία	1.8 ± 1.8	0.7 ± 1.3	1.1 ± 1.6	<b>0.001</b>	0.7	98%
Επιτακτική ακράτεια ούρων	1.6 ± 1.7	0.6 ± 1.2	0.9 ± 1.4	<b>0.001</b>	0.6	92%
Ακράτεια ούρων εκ προσπάθειας	1.6 ± 1.5	0.5 ± 0.9	1.2 ± 1.5	<b>0.001</b>	0.8	99%
Σταγόνες ούρων	1.8 ± 1.7	0.5 ± 1.1	1.3 ± 1.4	<b>&lt;0.001</b>	0.9	99%
Δυσκολίες ούρησης	0.2 ± 0.8	0.2 ± 0.9	0.0 ± 0.6	1		
Πόνος χαμηλά στην κοιλιά και στα γεννητικά όργανα	0.5 ± 0.9	0.2 ± 0.6	0.3 ± 0.9	p=0.1		

Οι μεταβολές στην παρουσία συνολικά των συμπτωμάτων του ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης πριν την έναρξη των θεραπειών και στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης παρουσιάζονται στον Πίνακα 7. Συνολικά 27 από τις 53 (51%) γυναίκες ανέφεραν ακράτεια οποιοδήποτε τύπου πριν την έναρξη των θεραπειών, ενώ 14 από τις 53 (26%) στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης ( $p= 0.009$ ).

**Πίνακας 7. Μεταβολές στην παρουσία συνολικά των συμπτωμάτων ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης.**

	Πριν την έναρξη των θεραπειών	12 εβδομάδες παρακολούθησης	p-value
<b>Δυσπαρέυνια*</b>	39 (98%)	28 (71%)	<b>&lt;0.001</b>
<b>Ξηρότητα</b>	46 (87%)	28 (53%)	<b>&lt;0.001</b>
<b>Αίσθημα καύσου</b>	12 (22%)	6 (12%)	<b>0.04</b>
<b>Αίσθημα κνησμού</b>	12 (22%)	4 (8%)	<b>0.03</b>
<b>Δυσουρία</b>	18 (34%)	6 (13%)	<b>0.001</b>
<b>Συχνουρία</b>	20 (38%)	8 (15%)	<b>0.008</b>
<b>Νυκτουρία</b>	21 (40%)	4 (9%)	<b>&lt;0.001</b>
<b>Έπειξη προς ούρηση</b>	39 (74%)	15 (28%)	<b>&lt;0.001</b>
<b>Ακράτεια ούρων επιτακτικού τύπου</b>	18 (34%)	9 (17%)	<b>0.04</b>
<b>Ακράτεια ούρων εκ προσπάθειας</b>	20 (38%)	10 (19%)	<b>0.03</b>
<b>Σεξουαλική δυσλειτουργία*</b>	37 (93%)	20 (50%)	<b>&lt;0.001</b>

\* Η παρουσία της δυσπαρέυνιας και σεξουαλικής δυσλειτουργίας υπολογίστηκαν στις γυναίκες που είχαν σεξουαλικές επαφές ή επιθυμούσαν να επανακτήσουν την σεξουαλική τους ζωή ( $n=40$ ). Όλα τα υπόλοιπα συμπτώματα υπολογίστηκαν στις 53 γυναίκες που συμμετείχαν συνολικά στο πρωτόκολλο.

### 3.2.2 Ποιότητα ζωής

Η ψυχική υγεία των γυναικών σημείωσε στατιστικά σημαντική βελτίωση όπως υποδηλώθηκε από το τμήμα της ψυχικής υγείας του SF-12 με μικρό όμως μέγεθος της επίδρασης και χωρίς να εμφανίζεται μεταβολή στο τμήμα της φυσικής κατάστασης (Πίνακας 8). Οι γυναίκες που ανέφεραν συμπτώματα από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα σημείωσαν στατιστικά σημαντική βελτίωση στην ποιότητα ζωής τους όπως αυτό εκφράστηκε από το KHQ (Πίνακας 8). Μάλιστα, σε κάθε τομέα του KHQ η βελτίωση ξεπερνούσε τους 5 βαθμούς που ορίζει την κλινικά σημαντική μεταβολή.



**Πίνακας 8. Αλλαγές στην ποιότητα ζωής.**

	Πριν την έναρξη των θεραπειών	12 εβδομάδες παρακολούθηση	Μέση τιμή των διαφορών	p-value	Μέγεθος της επίδρασης	Δύναμη της μελέτης
<b>SF-12</b>						
PCS-12	48.4 ± 9.6	49.9 ± 8.3	1.6 ± 5.9	0.1		
MCS-12	46.9 ± 9.4	48.8 ± 9.8	1.9 ± 6.3	<b>0.006</b>	0.3	83%
<b>ΚΗQ</b>	235.9 ± 226.1	114.1 ± 165.8	121.8 ± 114.9	<b>&lt;0.001</b>	1.1	100%
Γενική αντίληψη της υγείας	35.3 ± 20.6	20.7 ± 14.2	14.6 ± 16.6	<b>&lt;0.001</b>	0.9	99%
Αντίκτυπο της ακράτειας	38.1 ± 37.2	17.6 ± 26.5	20.8 ± 28.0	<b>0.001</b>	0.7	98%
Περιορισμός καθημερινών δραστηριοτήτων	29.5 ± 35.5	12.4 ± 24.4	17.1 ± 23.4	<b>0.001</b>	0.7	98%
Σωματικοί περιορισμοί	28.1 ± 33.8	11.6 ± 21.7	16.5 ± 22.3	<b>0.001</b>	0.7	98%
Κοινωνικοί περιορισμοί	17.5 ± 29.4	10.8 ± 23.6	6.7 ± 12.3	<b>0.007</b>	0.5	80%
Περιορισμοί στις προσωπικές σχέσεις	18.9 ± 33.3	6.1 ± 20.7	12.8 ± 24.2	<b>0.01</b>	0.5	80%
Συναισθηματικοί περιορισμοί	28.9 ± 38.9	10.8 ± 24.9	18.5 ± 28.2	<b>0.001</b>	0.7	98%
Περιορισμοί στον Ύπνο/Ενέργεια	20.5 ± 28.9	12.9 ± 23.9	7.9 ± 14.5	<b>0.002</b>	0.5	80%
Μέτρα αντιμετώπισης της ακράτειας	28.8 ± 29.8	12.8 ± 22.6	15.9 ± 18.7	<b>&lt;0.001</b>	0.9	99%

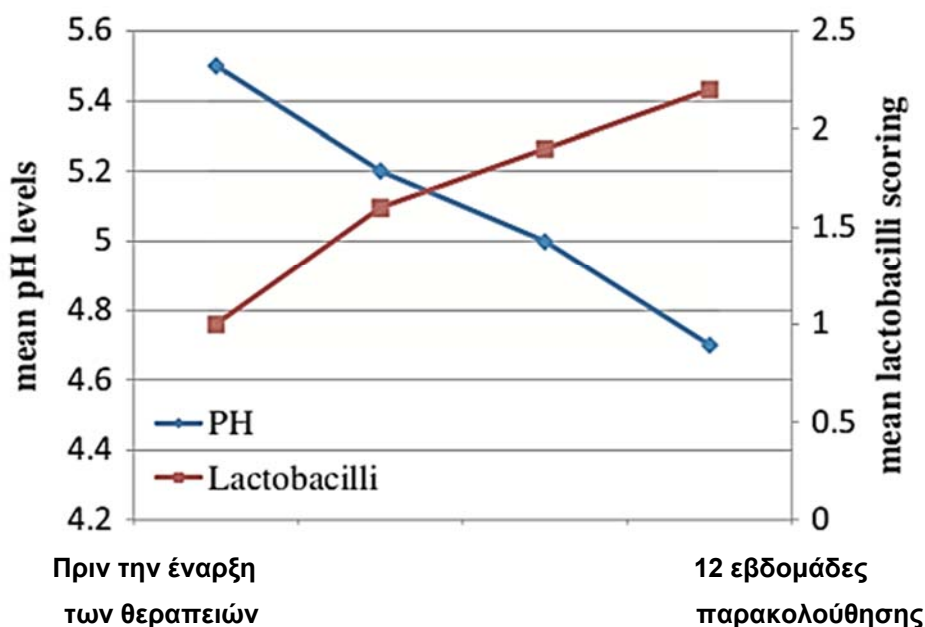
### 3.2.3 Αποψη των γυναικών για την θεραπεία

Όλες οι γυναίκες (100%) που συμμετείχαν στην μελέτη δήλωναν είτε ικανοποιημένες είτε πολύ ικανοποιημένες από την θεραπεία. Όσον αφορά την άποψη τους στην βελτίωση των συμπτωμάτων οι 16 από τις 53 (30%) γυναίκες, οι 32 από τις 53 (60%) και οι 5 από τις 53

(9%) ανέφεραν ότι ήταν πάρα πολύ καλύτερα, πολύ καλύτερα και λίγο καλύτερα, αντιστοίχως.

### 3.2.4 pH του κολπικού υγρού και μικροβιολογική χλωρίδα

Το pH του κολπικού υγρού μειώθηκε προοδευτικά μετά από κάθε θεραπεία και μέχρι τις 12 εβδομάδες παρακολούθησης (Σχεδιάγραμμα 6). Μάλιστα, η μέση τιμή του pH ελαττώθηκε από  $5.5 \pm 0.8$  πριν την έναρξη των θεραπειών, σε  $5.2 \pm 0.5$  ( $p=0.002$ ) στις 4 εβδομάδες παρακολούθησης,  $5.0 \pm 0.6$  ( $p < 0.001$ ) στις 8 εβδομάδες παρακολούθησης και τελικά σε  $4.7 \pm 0.5$  ( $p < 0.001$ ) στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης. Το κολπικό pH σημείωσε ελάττωση σε 47 από τις 53 γυναίκες (87%). Συγκεκριμένα, στις 43 από τις 53 γυναίκες (81%) έλαβε τιμές  $< 5$ , με τις 17 από αυτές τις 43 γυναίκες (40%) να έχουν  $pH < 4.5$ . Κατ' αντιστοιχία με την μείωση του pH παρατηρήθηκε προοδευτική αύξηση των γαλακτοβακίλλων στις 4, 8 και 12 εβδομάδες παρακολούθησης ( $p=0.001$ ,  $p < 0.001$  και  $p < 0.001$ , αντιστοίχως) (Σχεδιάγραμμα 6).



**Σχεδιάγραμμα 6.** Στατιστικά σημαντική μείωση του pH του κολπικού υγρού και στατιστικά σημαντική αύξηση των γαλακτοβακίλλων. Η μέση τιμή των γαλακτοβακίλλων προκύπτει από το Nugent σκορ.

Πριν από την έναρξη των θεραπειών τα μικρόβια που επικρατούσαν στην κολπική χλωρίδα ήταν οι γαλακτοβάκιλλοι (30%), *Bacteroides* (2%), *Mobiluncus* (2%), *Gardnerella* (6%), Gram θετικά (6%) και Gram αρνητικά βακτήρια (11%). Στις 15 από τις 53 γυναίκες (28%) δεν υπήρχε επικρατές μικρόβιο, ενώ στις 28 από τις 53 (15%) δεν υπήρχαν καθόλου μικρόβια. Στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης όλες οι γυναίκες είχαν κάποιου βαθμού μικροβιακής χλωρίδας. Συγκεκριμένα, στις 42 από τις 53 γυναίκες (79%) επικρατούσαν οι γαλακτοβάκιλλοι, σε 1 από τις 53 (2%) η *Gardnerella*, σε 4 από τις 53 (8%) τα Gram θετικά μικρόβια, σε 2 από τις 53 (4%) τα Gram αρνητικά, σε 1 από τις 53 (2%) η *Candida*, ενώ σε 3 από τις 53 (6%) δεν υπήρχε επικρατές μικρόβιο. Η παρουσία των βακτηρίων στην Gram χρώση και τις καλλιέργειες απεικονίζεται στον Πίνακα 9. Η παρουσία των γαλακτοβακίλλων αυξήθηκε στατιστικά σημαντικά, ενώ η παρουσία *Mobiluncus* και *E. Coli* μειώθηκε κατά στατιστικά σημαντικό τρόπο. Οι λεπτομερείς μεταβολές στο ποσοστό των γαλακτοβακίλλων, *Gardnerella*, *Bacteroides* και *Mobiluncus* με το Nugent σύστημα βαθμολόγησης στην Gram χρώση απεικονίζονται στον Πίνακα 10.

Πίνακα 9. Παρουσία μικροοργανισμών στην Gram χρώση και τις καλλιέργειες

Μικροοργανισμοί	Πριν την έναρξη των θεραπειών (N=53)*	4 εβδομάδες παρακολούθηση (N=53)*	8 εβδομάδες παρακολούθηση (N=53)*	12 εβδομάδες παρακολούθηση (N=53)*	p-value
<i>Lactobacillus</i>	36 (67.9)	45 (86.5)	46 (86.8)	53 (100)	<0.001
<i>Gardnerella vaginalis</i>	5 (9.4)	2 (3.8)	4 (7.5)	4 (7.5)	0.7
<i>Bacteroides</i>	5 (9.4)	5 (9.6)	4 (7.5)	2 (3.8)	0.2
<i>Mobiluncus</i>	4 (7.5)	2 (3.8)	2 (3.8)	0 (0)	0.04
<i>Streptococcus agalactiae</i>	5 (9.4)	2 (3.8)	1 (1.9)	2 (3.8)	0.2
<i>Enterococcus faecalis</i>	12 (22.6)	8 (15.1)	7 (13.2)	6 (11.3)	0.1
<i>E.coli</i>	20 (37.7)	10 (19.2)	6 (11.3)	9 (16.9)	0.02
<i>Klebsiella</i>	3 (5.7)	2 (3.8)	1 (1.9)	0 (0)	0.08
<i>Proteus</i>	1 (1.9)	2 (3.8)	3 (5.7)	1 (1.9)	1
<i>Candida spp.</i>	1 (1.9)	1 (1.9)	1 (1.9)	1 (1.9)	1

\*Αριθμός των γυναικών (%) στις οποίες υπάρχει παρουσία του κάθε μικροβίου.

Πίνακας 10. Αλλαγές των βακτηρίων στην Nugent βαθμολόγηση κατά την διάρκεια του πρωτοκόλλου

Είδη βακτηρίων	Πριν την έναρξη των θεραπειών (N=53)*	4 εβδομάδες παρακολούθηση (N=52)*	8 εβδομάδες παρακολούθηση (N=53)*	12 εβδομάδες παρακολούθηση (N=53)*	p-value
<b><i>Lactobacillus</i></b>					<b>&lt;0.001</b>
0	17 (32.1)	7 (13.5)	7 (13.5)	0 (0)	
1	21 (39.6)	18 (34.6)	13 (24.5)	19 (35.8)	
2	13 (24.5)	19 (36.5)	19 (35.8)	15 (28.3)	
3	2 (3.8)	5 (9.6)	8 (15.1)	11 (20.8)	
4	0 (0)	3 (5.8)	6 (11.3)	8 (15.1)	
<b><i>Gardnerella</i></b>					0.6
0	48 (90.6)	50 (96.2)	49 (92.5)	49 (92.5)	
1	0 (0)	0 (0)	1 (1.9)	0 (0)	
2	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1.9)	
3	3 (5.7)	2 (3.8)	1 (1.9)	1 (1.9)	
4	2 (3.8)	0 (0)	2 (3.8)	2 (3.8)	
<b><i>Bacteroides</i></b>					0.5
0	48 (90.6)	47 (90.4)	49 (92.5)	51 (96.2)	
1	0 (0)	1 (1.9)	1 (1.9)	0 (0)	
2	5 (9.4)	3 (5.8)	2 (3.8)	1 (1.9)	
3	0 (0)	1 (1.9)	1 (1.9)	1 (1.9)	
4	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
<b><i>Mobiluncus</i></b>					0.07
0	49 (92.5)	51 (98.1)	51 (96.2)	53 (100)	
1	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
2	1 (1.9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
3	2 (3.8)	0 (0)	1 (1.9)	0 (0)	
4	1 (1.9)	1 (1.9)	1 (1.9)	0 (0)	

\* Αριθμός των γυναικών (%) στις οποίες το κάθε μικρόβιο λαμβάνει την αντίστοιχη βαθμολόγηση Nugent.

Οι γυναίκες με φυσιολογική χλωρίδα αυξήθηκαν στατιστικά σημαντικά τόσο με την Nugent βαθμολόγηση όσο και με τα Hay-Ison κριτήρια. Συγκεκριμένα, το ποσοστό των γυναικών με φυσιολογική χλωρίδα αυξήθηκε από 47% πριν την έναρξη του πρωτοκόλλου στο 87% στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης, σύμφωνα με την Nugent βαθμολόγηση, και από 45% πριν την έναρξη του πρωτοκόλλου στο 91% στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης σύμφωνα με τα κριτήρια Hay-Ison (Πίνακας 11).

**Πίνακας 11. Μεταβολές στο ποσοστό γυναικών με φυσιολογική χλωρίδα σύμφωνα με την Nugent βαθμολόγηση και τα Hay-Ison κριτήρια.**

	Πριν την έναρξη θεραπειών (N=53)	4 εβδομάδες παρακολούθηση (N=52)	8 εβδομάδες παρακολούθηση (N=53)	12 εβδομάδες παρακολούθηση (N=53)	p-value
<b>Κολπική χλωρίδα κατά Nugent</b>					
Φυσιολογική	25 (47.2%)	39 (75%)	45 (84.9%)	46 (86.7%)	<b>&lt;0.001</b>
Ενδιάμεση	23 (43.4%)	13 (25%)	7 (13.2%)	6 (11.3%)	
Βακτηριακή κολπίτιδα	5 (9.4%)	0 (0%)	1 (1.9%)	1 (1.9%)	
<b>Κολπική χλωρίδα κατά Hay-Ison</b>					
Grade 0	17 (32.1%)	4 (7.7%)	7 (13.2%)	0 (0%)	
Grade 1*	24 (45.3%)	37 (71.2%)	40 (75.5%)	48 (90.6%)	<b>&lt;0.001</b>
Grade 2	3 (5.7%)	6 (11.5%)	2 (3.8%)	4 (7.6%)	
Grade 3	7 (13.2%)	1 (1.9%)	1 (1.9%)	1 (1.9%)	
Grade 4	2 (3.8%)	3 (5.8)	3 (5.7%)	0 (0%)	

\*Grade 1 ορίζει την φυσιολογική χλωρίδα

Τα επιθηλιακά κύτταρα στο κολπικό υγρό αυξήθηκαν σημαντικά μετά την δεύτερη και τρίτη θεραπεία σε σύγκριση με πριν την έναρξη του πρωτοκόλλου ( $p=0.007$  και  $p<0.001$ , αντιστοίχως). Πριν την έναρξη των θεραπειών σε 17 από τις 53 γυναίκες (33%) τα επιθηλιακά κύτταρα λάμβαναν σκορ 3 ή 4, σε 11 από τις 53 (21%) σκορ 2, σε 21 από τις 53 (40%) σκορ 1 και σε 3 από τις 53 (6%) σκορ 0. Μετά από 3 θεραπείες τα επιθηλιακά κύτταρα στις 31 από τις 53 (58%) γυναίκες είχαν σκορ 3 ή 4, στις 14 από τις 53 (26%) γυναίκες σκορ 2 και στις 8 από τις 53 (16%) σκορ 1. Η παρουσία λευκοκυττάρων παρέμεινε χωρίς μεταβολή.

### 3.3 Ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης

Στην ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης τα αποτελέσματα ήταν ως ακολούθως: 1) ο δείκτης ωριμότητας και ο δείκτης υγείας κόλπου αυξήθηκαν ανεξάρτητα από τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των γυναικών (π.χ χρόνια από την τελευταία εμμηνόρροια), 2) το pH του κολπικού υγρού έλαβε τιμές κάτω του 4.5 ανεξαρτήτου των δημογραφικών χαρακτηριστικών των γυναικών (π.χ ηλικία, χρόνια από την τελευταία εμμηνόρροια κλπ) και των χαρακτηριστικών της κολπικής χλωρίδας πριν από την έναρξη των θεραπειών (pH, χλωρίδα με βάση το Nugent σκορ και τα κριτήρια Hay-Ison), 3) η παρουσία ή η απουσία των αιδοιοκολπικών συμπτωμάτων στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης ήταν ανεξάρτητη από τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των γυναικών και 4) δεν αναγνωρίστηκε προγνωστικός παράγοντας της έντασης των συμπτωμάτων μετά τις θεραπείες laser.

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4**  
**«ΣΥΖΗΤΗΣΗ»**

Η ενδοκολπική θεραπεία με CO<sub>2</sub>-laser προτάθηκε πρόσφατα για την αντιμετώπιση της συμπτωματικής αιδοιοκολπικής ατροφίας. Η υπόθεση για την πιθανή χρησιμότητα του στην ανάπλαση του κόλπου βασίστηκε στο ότι προκαλεί θερμική επίδραση με ταυτόχρονη ελεγχόμενη επιφανειακή μικροεξάχνωση διεγείροντας έτσι τις πρωτεΐνες θερμικού σοκ αλλά και άλλων παραγόντων (π.χ TGF-β), χωρίς να υπάρχει κίνδυνος εμφάνισης ανεπιθύμητων ενεργειών που έχουν αναφερθεί για άλλες διαθέσιμες θεραπείες, όπως είναι οι ορμονικές. Με το παρόν πρωτόκολλο διερευνήθηκε για πρώτη φορά η επίδραση του CO<sub>2</sub>-laser σε γυναίκες με κλινικά σημεία και συμπτώματα του ουρογεννητικού συνδρόμου όχι μόνο εστιάζοντας στα συμπτώματα αιδοιοκολπικής ατροφίας αλλά σφαιρικά σαν ολότητα. Για πρώτη φορά, εκτιμήθηκε η αποτελεσματικότητα του CO<sub>2</sub>-laser διερευνώντας και τις 2 αρχές θεραπείας, τις μεταβολές δηλαδή στην τοπική φυσιολογία και την βελτίωση των συμπτωμάτων. Συγκεκριμένα, μετά από 3 θεραπείες με CO<sub>2</sub>-laser παρατηρήθηκε βελτίωση σε αντικειμενικά ευρήματα όπως είναι ο δείκτης ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου, ο δείκτης υγείας του κόλπου, το pH του κολπικού υγρού, το μικροβιολογικό προφίλ του κόλπου, αλλά και σε υποκειμενικά ευρήματα όπως είναι τα συμπτώματα τόσο από το κατώτερο γεννητικό όσο και από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα, η σεξουαλική υγεία και η ποιότητα ζωής των γυναικών. Μάλιστα, η βελτίωση που παρατηρήθηκε δεν ήταν μόνο στατιστικά σημαντική αλλά ήταν και κλινικά σημαντική, ενώ δεν εξαρτιόταν από τα χαρακτηριστικά των γυναικών (π.χ έτη από την τελευταία εμμηνορρυσία) πριν την έναρξη της θεραπείας. Επιβεβαίωση αυτής της θετικής αποτελεσματικότητας των CO<sub>2</sub>-laser θεραπειών αποτέλεσε η αντίληψη των ιδίων των γυναικών για την βελτίωση τους από την θεραπεία, με το 90% εξ' αυτών να δηλώνει «πάρα πολύ καλύτερα/πολύ καλύτερα» μετά την ολοκλήρωση του θεραπευτικού πρωτοκόλλου.

Ο δείκτης ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου και ο δείκτης υγείας του κόλπου αποτελούν οικονομικό τρόπο εκτίμησης της ορμονικής κατάστασης των γυναικών [124]. Μάλιστα, έχει βρεθεί ότι ανάμεσα στα χρόνια από την τελευταία εμμηνορρυσία και τον δείκτη ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου υπάρχει αρνητική συσχέτιση, γι' αυτό και προτείνεται ως μέσο εκτίμησης της αιδοιοκολπικής ατροφίας και συχνά χρησιμοποιείται ως εργαλείο προσδιορισμού της αποτελεσματικότητας των ενδοκολπικών θεραπειών [72, 124, 139 - 142]. Η στατιστικά σημαντική αύξηση του δείκτη ωριμότητας του κολπικού επιθηλίου που βρέθηκε στην παρούσα μελέτη μετά την ενδοκολπική θεραπεία με CO<sub>2</sub>-laser υποδεικνύει ότι οι laser θεραπείες επιδρούν στον κολπικό βλεννογόνο με τρόπο ανάλογο με τα οιστρογόνα. Αυτό το συμπέρασμα ενισχύεται περαιτέρω από το γεγονός ότι η συσχέτιση που υπήρχε ανάμεσα στον δείκτη ωριμότητας και τα χρόνια από την τελευταία εμμηνορρυσία πριν την έναρξη του πρωτοκόλλου χάθηκε στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης, με την



πλειοψηφία των γυναικών (57%) μετά την ολοκλήρωση του πρωτοκόλλου να αποκτούν μη ατροφικά επίπεδα ωριμότητας κολπικού επιθηλίου.

Επιπλέον, ο δείκτης υγείας του κόλπου αυξήθηκε με στατιστικά σημαντικό τρόπο υποδεικνύοντας την θετική επίδραση του laser στην κολπική υγεία. Το αποτέλεσμα δε αυτό έρχεται σε απόλυτη συμφωνία με αποτελέσματα των προηγούμενων μελετών αλλά και μεταγενέστερων όπως προέκυψε από στατιστική μετά-ανάλυση που πραγματοποιήθηκε μετά την δημοσίευση των αποτελεσμάτων του παρόντος πρωτοκόλλου σε επιστημονικά εγκεκριμένα περιοδικά με στόχο να παραχθεί μια συνολική εικόνα επίδρασης των θεραπειών laser στο ουρογεννητικό σύνδρομο της εμμηνόπαυσης και να μπορέσει να συγκριθεί το μέγεθος της επίδρασης των 3 θεραπειών CO<sub>2</sub>-laser που βρέθηκε σε αυτήν την μελέτη με άλλες αντίστοιχες μελέτες που έχουν δημοσιευθεί σε επιστημονικά περιοδικά με παγκόσμιο αντίκτυπο [143]. Δεδομένα όμως που να περιλαμβάνουν τον προσδιορισμό του ποσοστού των γυναικών που μπορούν να αποκτήσουν μη ατροφικό δείκτη υγείας κόλπου μετά από θεραπείες laser δεν έχουν δημοσιευτεί σε καμία άλλη μελέτη κάνοντας την πληροφορία που τεκμαίρεται από το παρόν πρωτόκολλο σημαντικής κλινικής σημασίας. Μετά από 3 θεραπείες λοιπόν με CO<sub>2</sub>-laser 89% των γυναικών θα αποκτήσουν μη ατροφικά επίπεδα δείκτη υγείας κόλπου ανεξαρτήτως των χαρακτηριστικών τους πριν την έναρξη της 1<sup>ης</sup> θεραπείας.

Όπως θα αναμενόταν τα αντικειμενικά ευρήματα θετικής επίδρασης του CO<sub>2</sub>-laser στον κολπικό βλεννογόνο είχαν κλινικό αντίκτυπο με ύφεση των συμπτωμάτων του ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης. Μάλιστα, όλα τα συμπτώματα αιδοιοκολπικής ατροφίας στο τέλος του θεραπευτικού πρωτοκόλλου ελαττώθηκαν σημαντικά, ενώ όλες οι γυναίκες που συμμετείχαν στην μελέτη βίωσαν βελτίωση των συμπτωμάτων τους, ακόμα και εκείνες όπου εξακολουθούσαν να έχουν στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης μέτριας προς σοβαρής έντασης συμπτωματολογία. Το ποσοστό δε βελτίωσης των συμπτωμάτων αυτών των γυναικών έφτανε έως και το 60%. Επιπλέον, η σεξουαλική λειτουργικότητα των γυναικών βελτιώθηκε σημαντικά όπως αντικατοπτρίζεται από την στατιστικά σημαντική αύξηση του FSFI. Αξίζει να τονιστεί ότι όλοι οι παράμετροι σεξουαλικής υγείας (επιθυμία, έξαψη, οργασμός, εφύγρανση, ικανοποίηση και πόνος) μεταβλήθηκαν με κλινικά σημαντικό τρόπο όπως αποκαλύπτεται από τα μεγάλα μεγέθη επίδρασης του laser (όλα  $\geq 1.3$ ). Επιπλέον, η στατιστικά σημαντική αύξηση της συχνότητας των σεξουαλικών επαφών συντελεί στην επιβεβαίωση της ακεραιότητας και εγκυρότητας των παρατηρήσεων που σημειώθηκαν στο FSFI.

Τα συμπτώματα αιδοιοκολπικής ατροφίας συσχετίζονται ισχυρά με τα συμπτώματα από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα [65], ενώ η παρουσία ξηρότητας σχετίζεται με μεγαλύτερη παρουσία ακράτειας ούρων [155]. Έτσι, όπως αναμενόταν εκτός των συμπτωμάτων αιδοιοκολπικής ατροφίας, όλα τα συμπτώματα από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα ελαττώθηκαν σημαντικά σε ένταση και επίπτωση μετά από 3 θεραπείες με CO<sub>2</sub>-laser όπως εκτιμήθηκε από τις μεταβολές στα ερωτηματολόγια ICIQ-FLUTS filling domain, ICIQ-UI SF και UDI-6. Μάλιστα, η μέση τιμή της βελτίωσης του ICIQ-UI SF ήταν 4.7 πολύ μεγαλύτερη δηλαδή από το 2.52 που αποτελεί την ελάχιστη διαφορά για να υπάρχει κλινικής σημασίας αποτέλεσμα. Όσον αφορά το UDI-6 ερωτηματολόγιο οι δυσκολίες ούρησης και ο πόνος χαμηλά στην κοιλιά ήταν τα μόνα συμπτώματα που δεν σημείωσαν ελάττωση αλλά αφενός δεν συγκαταλέγονται στα συμπτώματα από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα που περιλαμβάνει το ουρογεννητικό σύνδρομο της εμμηνόπαυσης και αφετέρου ήταν παρόντα σε πολύ μικρό αριθμό γυναικών για να μπορέσουν να βγουν συμπεράσματα (6% και 13% των γυναικών, αντιστοίχως).

Η βελτίωση των συμπτωμάτων από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα είχε σαν αποτέλεσμα την βελτίωση της ποιότητας ζωής των γυναικών με συμπτώματα από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα όπως εκτιμήθηκε από το KHQ. Είναι σημαντικό να υπογραμμιστεί ότι η βελτίωση παρατηρήθηκε σε όλους τους τομείς του KHQ και δεν ήταν μόνο στατιστικά σημαντική αλλά και κλινικά, αφού το όριο των 5 μονάδων που υποδεικνύει κλινικής σημασίας αποτελέσματα ξεπεράστηκε σε όλους τους τομείς. Αν και στο KHQ παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική βελτίωση στον τομέα της γενικής υγείας των γυναικών με συμπτώματα από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα, στον τομέα της φυσικής κατάστασης του γενικού ερωτηματολογίου ποιότητας ζωής SF-12, που συμπληρώθηκε από όλες τις συμμετέχουσες στην μελέτη, δεν αναδείχτηκε μεταβολή. Στατιστικά σημαντική βελτίωση σημειώθηκε μόνο στον τομέα της ψυχικής υγείας του SF-12. Αυτά τα αποτελέσματα μπορούν να γίνουν εύκολα κατανοητά και να θεωρηθούν αναμενόμενα εάν αναλογιστεί κανείς το περιεχόμενο των ερωτήσεων του τομέα εκτίμησης της φυσικής κατάστασης του SF-12 που περιλαμβάνει πέρα από την γενική ερώτηση της αντίληψης των γυναικών για την υγεία τους, ερωτήσεις γενικού περιεχομένου που αφορούν την ικανότητα των γυναικών να μετακινήσουν κάποιο έπιπλο, να ανέβουν σκάλες, να κατορθώσουν όλα όσα επιθυμούν κλπ. Από την άλλη το ουρογεννητικό σύνδρομο της εμμηνόπαυσης συσχετίζεται με αρνητικό αντίκτυπο στην ψυχική υγεία των γυναικών οπότε βελτίωση των συμπτωμάτων του θα έπρεπε να επιφέρει και βελτίωση της ψυχικής υγείας των γυναικών όπως και έγινε. Σε προηγούμενες βέβαια μελέτες στατιστικά σημαντική βελτίωση παρατηρήθηκε και στους 2 τομείς του SF-12 μετά από 3 θεραπείες με CO<sub>2</sub>-laser, αν και

όπως παρατήρησαν οι συγγραφείς, η βελτίωση δεν συσχετιζόταν με την αντίστοιχη βελτίωση της σεξουαλικής υγείας των γυναικών και δεν μπορούσαν να εξηγήσουν τα αποτελέσματα τους [117, 118].

Δυο στατιστικές μετα-αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με στόχο να αναζητηθεί η συνολική επίδραση του CO<sub>2</sub>-laser και να συγκριθεί το μέγεθος επίδρασης της θεραπείας που ανευρέθει στο παρόν πρωτόκολλο με προηγούμενες και μεταγενέστερες μελέτες όπως αναφέρθηκε και ανωτέρω [143, 157]. Έτσι, παρατηρήθηκε ότι τα αποτελέσματα σχετικά με την επίδραση της laser θεραπείας στην δυσπαρεούνια, ξηρότητα και σεξουαλική λειτουργία αυτής της μελέτης επιβεβαιώθηκαν από τις υπόλοιπες μελέτες στην βιβλιογραφία. Είναι εντυπωσιακό ότι διαφορετικοί ερευνητές, σε διαφορετικά κέντρα, με διαφορετικό πληθυσμό γυναικών και σε διαφορετικό χρονικό διάστημα βρήκαν αποτελέσματα αντίστοιχα με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης γεγονός που συνηγορεί στην αντικειμενικά θετική επίδραση της laser θεραπείας στα συμπτώματα του ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης. Η μοναδική διαφορά που ανεδείχθη ανάμεσα στα αποτελέσματα αυτής της μελέτης με άλλες αφορούσε τα συμπτώματα κνησμού, καύσου και δυσουρίας όπου και μεν σε όλες υπήρχε στατιστικά σημαντική βελτίωση, το μέγεθος όμως της επίδρασης των άλλων μελετών ήταν μεγαλύτερο από το μέγεθος της επίδρασης που αναδείχτηκε από το παρόν πρωτόκολλο. Αυτή η διαφοροποίηση οφείλεται στο ότι στις άλλες μελέτες αυτά τα συμπτώματα εκτιμήθηκαν μόνο σε γυναίκες που τα είχαν πριν την εισαγωγή τους στην εκάστοτε μελέτη ενώ στο παρόν πρωτόκολλο ο υπολογισμός των αποτελεσμάτων συμπεριλάμβανε όλες τις γυναίκες που συμμετείχαν στο πρωτόκολλο ανεξαρτήτως παρουσίας ή απουσίας των συμπτωμάτων.

Περαιτέρω ένδειξη της ωφέλιμης επίδρασης του CO<sub>2</sub>-laser στο κολπικό περιβάλλον αποτελεί η σταδιακή μείωση του pH του κολπικού υγρού που ξεκίνησε ήδη από την 1<sup>η</sup> θεραπεία και συνεχίστηκε έως τις 12 εβδομάδες παρακολούθησης. Έτσι, στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης η μέση τιμή του pH του κολπικού υγρού ήταν 4.7 με το 81% των ασθενών να έχει pH < 5. Αυτό το αποτέλεσμα είναι εξαιρετικής σημασίας μιας και έχει βρεθεί ότι μετά από 12 εβδομάδες χρήσης κολπικών οιστρογόνων η μέση τιμή του pH ποικίλει από 4.6 έως και 4.9 ανάλογα με τον τύπο του οιστρογόνου που έχει χρησιμοποιηθεί, την δοσολογία και τον τρόπο απελευθέρωσης της δραστικής ουσίας [142, 144 - 149]. Σε τυχαίοποιημένη μάλιστα μελέτη σύγκρισης του υαλουρονικού οξέος με κολπική οιστραδιόλη μόνο το 14% των συμμετεχόντων που έλαβαν οιστραδιόλη είχαν pH <5 κατά την ολοκλήρωση της θεραπευτικής περιόδου, ενώ το 86% είχαν τιμές pH που κυμαίνονταν από 5 έως και 5.49 [150].

Η προοδευτική μείωση του pH του κολπικού υγρού που παρατηρήθηκε ήταν σε απόλυτη συνάρτηση με την σταδιακή αύξηση των γαλακτοβακίλλων και του ποσοστού των γυναικών με φυσιολογική χλωρίδα. Συγκεκριμένα, πριν την έναρξη του πρωτοκόλλου το ποσοστό των γυναικών όπου οι γαλακτοβάκιλλοι αποτελούσαν το επικρατές μικρόβιο ήταν 30% ενώ μετά την ολοκλήρωση του πρωτοκόλλου άγγιζε το 79%. Αυτό είναι σπουδαίο εύρημα εάν αναλογιστεί κανείς ότι σε μελέτη σύγκρισης του υαλουρονικού οξέος με κολπική οιστριόλη η επικράτηση των γαλακτοβάκιλλων για την μεν ομάδα του υαλουρονικού οξέος αυξήθηκε από 31% πριν την έναρξη της θεραπείας σε 43% μετά την θεραπεία και για την δε ομάδα οιστριόλης αυξήθηκε από 34% πριν την έναρξη της θεραπείας σε 55% μετά την θεραπεία [147].

Η επικράτηση των γαλακτοβακίλλων είναι εξαιρετικής σημασίας για την ισορροπία του μικροβιολογικού κολπικού περιβάλλοντος και θεωρείται ένα από τα 2 κριτήρια που ξεχωρίζει τις μικροβιακές κοινότητες με το 2<sup>ο</sup> κριτήριο να αποτελεί ο συγκεκριμένος υποτύπος των γαλακτοβακίλλων [151]. Αν και στο παρόν πρωτόκολλο δεν πραγματοποιήθηκε η ταυτοποίηση των υποτύπων των γαλακτοβακίλλων, γιατί στόχος ήταν από την μια η εκτίμηση του κολπικού υγρού ακολουθώντας τις διαδικασίες της «καθ' ημέραν» κλινικής πράξης και από την άλλη να μην ταυτοποιηθούν μικρόβια με άγνωστη κλινική σημασία όπως μπορεί να συμβεί ακολουθώντας μοριακές μεθόδους (PCR) προσδιορισμού του μικροβιώματος του κόλπου, η αύξηση του ποσοστού επικράτησης των γαλακτοβακίλλων αποτελεί ένδειξη ότι η laser θεραπεία επιδρά στον κολπικό βλεννογόνο με τρόπο ωφέλιμο για το μικροβιολογικό οικοσύστημα, συμπέρασμα που μπορεί να χρησιμοποιηθεί από τον κλινικό γιατρό. Επιπλέον επιβεβαίωση αυτού αποτελεί η παρατήρηση ότι όλα τα παθογόνα που ανταγωνίζονται τους γαλακτοβακίλλους εμφάνισαν τάση μείωσης, αν και στατιστικά σημαντική ελάττωση παρατηρήθηκε μόνο για το *E. Coli* και *Mobiluncus*.

Η ελάττωση των *Gardnerella*-like μικροβίων και του ενδιάμεσου/βακτηριακής-κολπίτιδας τύπου χλωρίδας δείχνει ότι το CO<sub>2</sub>-laser λειτουργεί υπέρ της ισορροπίας του κολπικού μικροβιακού οικοσυστήματος και δεν προδιαθέτει σε κολπίτιδες. Περαιτέρω, η ελάττωση που παρατηρήθηκε μετά την ολοκλήρωση του πρωτοκόλλου στην παρουσία των ουροπαθογόνων συντελεί στο συμπέρασμα ότι μάλλον λειτουργεί προστατευτικά στην εμφάνιση ουρολοιμώξεων. Όπως αναφέρθηκε στο Κεφάλαιο 2 ο αποικισμός του κόλπου με ουροπαθογόνα προδιαθέτει στην εμφάνιση ουρολοιμώξεων ως μεμονωμένων ή υποτροπιάζοντων επεισοδίων. Μέχρι τώρα, η χρήση ορμονικής θεραπείας με ή χωρίς την χρήση αντιβιοτικών αποτελούσε την μοναδική επιλογή διατήρησης της κολπικής χλωρίδας σε υγιή επίπεδα και ελάττωσης της επίπτωσης των ουρολοιμώξεων [40, 55, 144 - 150, 153

– 155]. Το γεγονός βέβαια ότι στο παρόν πρωτόκολλο ένα πολύ μικρό ποσοστό γυναικών (4%) είχαν ιστορικό υποτροπιάζοντων ουρολοιμώξεων συντελεί στο να μην μπορούν να βγουν άμεσα συμπεράσματα όσον αφορά την επίδραση του CO<sub>2</sub>-laser στις ουρολοιμώξεις παρά μόνο έμμεσα, θέτει όμως την βάση για περαιτέρω διερεύνηση σε αυτήν την ομάδα γυναικών.

Τόσο η αύξηση του ποσοστού επικράτησης των γαλακτοβακίλλων όσο και η μείωση του κοιλιακού pH ήταν σε συμφωνία με την στατιστικά σημαντική αύξηση των ελεύθερων επιθηλιακών κυττάρων στο κοιλιακό υγρό. Αυτή η παρατήρηση επιβεβαιώνει τα ιστολογικά αποτελέσματα προηγούμενης μελέτης όπου είχε καταλήξει στο συμπέρασμα ότι μια από τις δράσεις του CO<sub>2</sub>-laser στον κοιλιακό βλεννογόνο ήταν η αύξηση της απελευθέρωσης των επιφανειακών επιθηλιακών κυττάρων γεμάτων με γλυκογόνο από το κοιλιακό επιθήλιο παρέχοντας το κατάλληλα θρεπτικά συστατικά στους γαλακτοβακίλλους για να αναπτυχθούν και να ελαττώσουν το pH του κοιλιακού υγρού [119]. Το γεγονός ότι στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης αυξήθηκαν στατιστικά σημαντικά τα ελεύθερα επιφανειακά κύτταρα και το πάχος του κοιλιακού επιθηλίου με επιφανειακά κύτταρα πλούσια σε γλυκογόνο σημαίνει ότι η αποκατάσταση της κοιλιακής υγείας εξακολουθεί να βρίσκεται υπό εξέλιξη 1 μήνα μετά την 3<sup>η</sup> θεραπεία και πιθανώς το pH του κοιλιακού υγρού να φτάσει σε επίπεδα < 4.5 σε μεγαλύτερο ποσοστό γυναικών από αυτό που παρατηρήθηκε στις 12 εβδομάδες παρακολούθησης.

Εν κατακλείδει, η ενδοκοιλιακή θεραπεία με CO<sub>2</sub>-laser φαίνεται πολλά υποσχόμενη για την αντιμετώπιση αυτού του πολύπλοκου συνδρόμου που ονομάζεται ουρογεννητικό σύνδρομο της εμμηνόπαυσης και που αφορά κλινικά σημεία και συμπτώματα από το κατώτερο γεννητικό και ουροποιητικό σύστημα και περιλαμβάνει μεταβολές σε επίπεδο ιστού. Όπως βρέθηκε από τα αποτελέσματα του παρόντος πρωτοκόλλου υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι μπορεί να το αντιμετωπίσει συνολικά το σύνδρομο και να βελτιώσει την τοπική φυσιολογία και τα συμπτώματα του. Βέβαια, περαιτέρω διερεύνηση με τυχαίοποιημένες υψηλής ποιότητας μελέτες είναι απαραίτητες για να μπορέσει να αποτελέσει επίσημη θεραπευτική αντιμετώπιση του ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης.

## **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

- Ενδοκολπική θεραπεία με CO<sub>2</sub>-laser φαίνεται ότι έχει θέση στην αντιμετώπιση του ουρογεννητικού συνδρόμου της εμμηνόπαυσης.
- Το CO<sub>2</sub>-laser έχει θετική επίδραση στο κολπικό περιβάλλον των εμμηνοπαυσιακών γυναικών όπως αυτό υποδεικνύεται από την μεταβολή του κολπικού επιθηλίου σε πιο ώριμο, του δείκτη υγείας του κόλπου σε μη ατροφικά επίπεδα, την μείωση του pH του κολπικού υγρού και την αύξηση των γαλακτοβακίλλων και της φυσιολογικής χλωρίδας του κόλπου.
- Μετά την ολοκλήρωση πρωτοκόλλου 3 θεραπειών μπορούν να μειωθούν σημαντικά τα συμπτώματα αιδοιοκολπικής ατροφίας όπως και τα συμπτώματα από το κατώτερο ουροποιητικό σύστημα τόσο σε ένταση όσο και σε επίπτωση, και να αυξηθεί η σεξουαλική και ψυχική υγεία των γυναικών και γενικότερα η συνολική ποιότητα ζωής τους.

## **BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. Harlow SD, Gass M, Hall JE, Lobo R, Maki P, Rebar RW, Sherman S, Sluss PM, de Villiers TJ, for the STRAW + 10 Collaborative Group. Executive summary of the Stages of Reproductive Aging Workshop +10: addressing the unfinished agenda of staging reproductive aging. **Menopause** 2012;19:387-95
2. Cobin RH, Futterweit W, Ginzburg SB, Goodmasn NF, Kleerekoer M, Licata AA, Meikle AW, Petak SM, Porte KL, Sellin RV, Smith KD, Versi MA, Watts NB; AACE Menopause Guidelines Revision Task Force. American Association of Clinical Endocrinologists medical guidelines for clinical practice for the diagnosis and treatment of menopause. **Endocr Pract** 2006;12:315-37
3. WHO Scientific Group Research on the menopause in the 1990's: a report of the WHO Scientific Group. **World Health Organisation** 1996;866:1-79
4. Perlman B, Kulak D, Goldsmith LT, Weiss G. The etiology of menopause: not just ovarian dysfunction but also a role for the central nervous system. **Global Reprod Health** 2018;3:e08
5. Gold EB. The timing of the Age at Which Natural Menopause Occurs. **Obstet Gynecol Clin North Am** 2011;28:425-40
6. Stepaniak U, Szafraniec K, Kubinova R, Malyutina S, Peasey A, Pikhart H, Pajka A, Bobak M. Age at natural menopause in three Central and Eastern European urban populations: The HAPPIEE study. **Maturitas** 2013;75:87-93
7. Dunneram Y, Greenwood DC, Burley VJ, Cade JE. Dietary intake and age at natural menopause: results from the UK Women's Cohort Study. **J Epidemiol Community Health** 2018;72:733-40
8. Dratva J, Real FG, Schindler C, Ackermann-Liebrich U, Gerbase MW, Probst-Hensch NM, Svanes C, Omenaas ER, Neurkirch F, Wjst M, Morabia A, Jarvis D, Leynaert B, Zemp E. Is age at menopause increasing across Europe? Results on age at menopause and determinants from two population-based studies. **Menopause** 2009;16:385-94
9. Mac Bride MB, Rhodes DJ, Shuster LT. Vulvovaginal atrophy. **Mayo Clin Proc** 2010;85:87-94
10. Burger HG, Hale GE, Robertson DM, Dennerstein L. A review of hormonal changes during the menopausal transition: focus on findings from the Melbourne Women's Midlife Health Project. **Hum Reprod Update** 2007;13:559-565

11. Monteleone P, Mascagni G, Giannini A, Genazzani AR, Simoncini T. Symptoms of menopause-global prevalence, physiology and implications. ***Nat Rev Endocrinol*** 2018;14:199-215
12. Jameson AS, Fauci DL, Kasper SL, Hauser DL, Longo, Loscalzo J: Harrison's Principles of Internal Medicine, 20<sup>th</sup> Edition, Mc Graw Hill Education 2018
13. Randolph JF Jr, Zheng H, Sowers MR, Crandall C, Crawford S, Gold EB, Vuga M. Change in follicle-stimulating hormone and estradiol across the menopausal transition: effect of age at the final menstrual period. ***J Clin Endocrinol Metab*** 2011;96:746-54
14. Spencer JB Klein M, Kumar A, Azziz R. The age-associated decline of androgens in reproductive age and menopausal Black and White women. ***J Clin Endocrinol Metab*** 2007;92:4730-3
15. Thomas HN, Nea-Perry GS, Hess R. Female Sexual Function at Midlife and beyond. ***Obstet Gynecol Clin N Am*** 2018;45:709-22
16. Chubaty A, Tami M, Shandro L, Schuurmans N, Yuksel N. Practice patterns with hormone therapy after surgical menopause. ***Maturitas*** 2011;69:69-73
17. Gallicchio L, Whiteman MK, Tomic D, Miller KP, Langenberg P, Flaws JA. Type of menopause, patterns of hormone therapy use, and hot flashes. ***Fertil Steril*** 2006;85:1432-40
18. Panda S, Das A, Santa Singh A, Pala S. Vaginal pH: A marker for menopause. ***J Midlife Health*** 2014;5:34-7
19. Johnson BD, Merz CN, Braunstein GD, Berga SL, Bittner V, Hodgson TK, Gierarch GL, Reis SE, Vido DA, Sharaf BL, Smith KM, Sopko G, Kelsey SF. Determination of menopausal status in women: the NHLBI-sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) Study. ***J Womens Health (Larchmit)*** 2004;13:872-87
20. Sukumvanich P, Case LD, Van Zee K, Singletary SE, Paskett ED, Petrek JA, Naftalis E, Naughton MJ. Incidence and time course of bleeding after long-term amenorrhea after breast cancer treatment: a prospective study. ***Cancer*** 2010;116:3102-11
21. Portman DJ, Gass MLS; on behalf of the Vulvovaginal Atrophy Terminology Consensus Conference Panel. Genitourinary syndrome of menopause: new terminology for vulvovaginal atrophy from the International Society for the study of Women's Sexual Health and The North American Menopause Society. ***Menopause*** 2014;21:1063-8
22. Traish AM, Vignozzi L, Simon JA, Goldstein I, Kim NN. Role of Androgens in Female Genitourinary Tissue Structure and Function: Implications in the Genitourinary Syndrome of Menopause. ***Sex Med Rev*** 2018;6:558-71



23. Robinson DR, Cardozo LD. The role of estrogens in female lower urinary dysfunction. **Urol** 2003;62 (Suppl 4A):45-51
24. Chapple CR, MacDiarmid SA, Patel A. Urodynamics Made Easy, 3<sup>rd</sup> Edition, Elsevier, 2009
25. Skala CE, Petry IB, Albrich SB, Puhl A, Naumann G, Koelbl H. The effect of hormonal status on the expression of estrogen and progesterone receptor in vaginal wall and periurethral tissue in urogynecological patients. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol** 2010;153:99-103
26. Tadı́r Y, Gaspar A, Lev-Sagie A, Alexiades M, Alinsod R, Bader A, Calligaro A, Elias JA, Gambacianni M, Graviria JE, Iglesia CB, Selih-Martinec K, Mwesigwa PL, Ogrinc UB, Salvatore S, Scollo P, Zerbinati N, Nelson JS. Light and Energy Based Therapeutics for Genitourinary Syndrome of Menopause: Consensus and Controversies. **Lasers Surg Med** 2017;49:137-59
27. Cavallini A, Dinaro E, Giocolano A, Caringella AM, Ferreri R, Tutino V, Loverro G. Estrogen (ER) and ER-related receptor expression in normal and atrophic human vagina. **Maturitas** 2008;59:219-25
28. Skala CE, Petry IB, Albrich SB, Puhl A, Naumann G, Koelbl H. The effect of hormonal status on the expression of estrogen and progesterone receptor in vaginal wall and periurethral in urogynecological patients. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol** 2010;153:99-103
29. Braun CA, Anderson CM. Pathophysiology: Functional Alterations in Human Health, Lippincott Williams & Wilkins, 2007
30. Bachmann GA, Nevadunsky NS. Diagnosis and Treatment of Atrophic Vaginitis. **Am Fam Physician** 2000;61:3090-6
31. Gandhi J, Chen A, Gautam D, Suh Y, Smith N, Cali B, Khan SA. Genitourinary syndrome of menopause: an overview of clinical manifestations, pathophysiology, etiology, evaluation and management. **Am J Obstet Gynecol** 2016;215:704-11
32. Nappi RE, Palacios S. Impact of vulvovaginal atrophy on sexual health and quality of life at postmenopause. **Climacteric** 2014;17:3-9
33. Naumova I, Castelo-Branco C. Current treatment options for postmenopausal vaginal atrophy. **Int J Womens Health** 2018;10:387-95
34. Hawes SE, Hillier SL, Benedetti J, Stevens CE, Koutsky LA, Wolner-Hanssen P, Holmes KK. Hydrogen peroxide-producing lactobacilli and acquisition of vaginal infections. **J Infect Dis** 1996;174:1058-63.

35. Sobel JD. Is there a protective role for vaginal flora? ***Curr Infect Dis Rep*** 1999;1:379–83.
36. Boris S, Suarez JE, Vazquez F, Barbes C. Adherence of human vaginal lactobacilli to vaginal epithelial cells and interaction with uropathogens. ***Infect Immun*** 1998;66:1985–1989.
37. Osset J, Bartolome RM, Garcia E, Andreu A. Assessment of the capacity of Lactobacillus to inhibit the growth of uropathogens and block their adhesion to vaginal epithelial cells. ***J Infect Dis*** 2001;183: 485 – 491.
38. Donders GG, Bosmans E, Dekeersmaecker A, Vereecken A, Van Bulck B, Spitz B. Pathogenesis of abnormal vaginal bacterial flora. ***Am J Obstet Gynecol*** 2000;182:872-8.
39. Stamey TA. The role of introital enterobacteria in recurrent urinary infections. ***J Urol*** 1973;109:467-72
40. Farage MA, Miller KW, Sobel JD. Dynamics of the Vaginal Ecosystem-Hormonal Influences. ***Infect Dis Res Treat*** 2010;3:1-15
41. Pabich WL, Fihn SD, Stamm WE, Scholes D, Boyko EJ, Gupta K. Prevalence and Determinants of Vaginal Flora Alterations in Postmenopausal Women. ***JID*** 2003;188:1054-8
42. Jurkiewicz B, Zabkowski T. Nonkeratinised Squamous Metaplasia of the urinary bladder in children: A review report of case experiences. ***Biomed Res Int*** 2014;2014:936970
43. Moral E, Delgado JL, Carmona F, Caballero B, Guillan C, Gonzalez PM, Suarez-Almarza J, Velasco-Ortega S, Nieto C as the writing group of the GENISSE study. Genitourinary syndrome of menopause. Prevalence and quality of life in Spanish postmenopausal women. The GENISSE study. ***Climacteric*** 2018;21:167-73
44. Management of symptomatic vulvovaginal atrophy: 2013 position statement of the North American Menopause Society. ***Menopause*** 2013;20:888-902
45. Parish SJ, Nappi RE, Krychman ML, Kellogg-spadt S, Simon JA, Goldstein JA, Kingsberg SA. Impact of vulvovaginal health on postmenopausal women: a review of surveys on symptoms of vulvovaginal atrophy. ***Int J Womens Health*** 2013;5:437-47
46. Dennerstein L, Dudley EC, Hopper JL, Guthrie JR, Burger HG. A prospective population-based study of menopausal symptoms. ***Obstet Gynecol*** 2000;96:351-8
47. Nappi RE, Kokot-Kierepa M. Vaginal Health: Insights, Views and Attitudes (VIVA)-results from an international survey. ***Climacteric*** 2012;15:36-44

48. Oge T, Hassa H, Aydin Y, Yalcin OT, Colak E. The relationship between urogenital symptoms and climacteric complaints. **Climacteric** 2013;16:646-52
49. Nappi RE, Palacios S, Panay N, Particco M, Krychman ML. Vulvar and vaginal atrophy in four European countries: evidence from the European REVIVE Survey. **Climacteric** 2016;19:188-97
50. Levine KB, Williams RE, Hartmann KE. Vulvovaginal atrophy is strongly associated with female sexual dysfunction among sexually active postmenopausal women. **Menopause** 2008;15:661-6
51. Simon JA, Nappi RE, Kingsberg SA, Maamari R, Brown V. Clarifying Vaginal Atrophy's Impact on sex and Relationships (CLOSER) survey: emotional and physical impact of vaginal discomfort on North American postmenopausal women and their partners. **Menopause** 2014;21:137-42
52. Robinson D, Cardozo L. The pathophysiology and management of postmenopausal urogenital oestrogen deficiency. **J Br Menopause Soc** 2001;7:67-3
53. Iosif CS, Bekassy Z. Prevalence of genitourinary symptoms in the late menopause. **Acta Obstet Gynecol Scand** 1984;63:257-60
54. Molander U, Milsom I, Ekelund P, Mellstrom D. An epidemiological study of urinary incontinence and related urogenital symptoms in elderly women. **Maturitas** 1990;12:51-60
55. Perrotta C, Aznar M, Mejia R, Albert X, Ng CW. Oestrogens recurrent urinary tract infection in postmenopausal women. **Cochrane Database Syst Rev** 2008:CD005131
56. Pinkerton JV. Vaginal impact of menopause-related estrogen deficiency. **OBG Management** 2010;22:S2-S7
57. Laumann EO, Paik A, Rosen RC. Sexual dysfunction in the United States: prevalence and predictors. **JAMA** 1999;281:537-44
58. Moller LA, Lose G. Sexual activity and lower urinary tract symptoms. **Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct** 2006;17:18-21
59. Salonia A, Briganti A, Gallina A, Zanni G, Deho F, Rigatti P, Montorsi F. Lower Urinary Tract Symptoms and Sexual Dysfunction in Women. **Curr Sex Health Rep** 2007;4:85-90
60. Simon JA, Goldstein I, Kim NN, Davis SR, Kellogg-Spadt S, Lowenstein L, Pinkerton JV, Stuenkel CA, Traish AM, Archer DF, Bachmann G, Goldstein AT, Nappi RE, Vignozzi L. The role of androgens in the treatment of genitourinary syndrome of menopause (GSM): International Society for the Study of Women's Sexual Health (ISSWH) expert consensus panel review. **Menopause** 2018;25:837-47

61. Donders GGG, Ruban K, Bellen G, Grinceviciene S. Pharmacotherapy for the treatment of vaginal atrophy. **Expert Opin Pharmacother** 2019;21:1-15
62. Tuntiviriyapun P, Panyakhamlerd K, Triratanachat S, Chatsuwan T, Chaikittisilpa S, Jaisamrarn U, Taechakraichana N. Newly developed vaginal atrophy symptoms II and vaginal pH: a better correlation in vaginal atrophy? **Climacteric** 2015;18:246-51
63. Tucker KM, Godha K, Mirklin S, Archer DF. Vaginal pH: a simple assessment highly correlated with vaginal morphology and symptoms in postmenopausal women. **Menopause** 2018;25:762-6
64. Sherrard J, Wilson J, Donders G, Mendling W, Jensen JS. 2018 European (IUSTI/WHO) International Union against sexually transmitted infections (IUSTI) World Health Organisation (WHO) guideline on the management of vaginal discharge. **Intern J STD AIDS** 2018;29:1258-72
65. Bo K, Frawley HC, Haylen BT, Abramov Y, Almeida FG, Berghmans B, Bortolini M, Dumoulin C, Gomes M, McClurg D, Meijlink J, Shelly E, Trabuco E, Walker C, Wells A. An International Urogynecological Association (IUGA)/International Continence Society (ICS) joint report on the terminology for the conservative and pharmacological management of female pelvic floor dysfunction. **Neurol Urodyn** 2017;36:221-44
66. Sturdee DW, Panay N, on behalf of the International Menopause Society Writing Group. Recommendations for the management of postmenopausal vaginal atrophy. **Climacteric** 2010;13:509-22
67. Rullo J, Faubion SS, Hartzell R, Goldstein S, Cohen D, Frohmader K, Winter AG, Mara K, Schroeder D, Goldstein I. Biopsychosocial Management of Female Sexual Dysfunction: A Pilot Study of Patient Perceptions From 2 multi-Disciplinary Clinics. **Sex Med** 2018;6:217-23
68. Mitchell CM, Reed SD, Diem S, Larson JC, Newton KM, Ensrud KE, LaCroix AZ, Caan B, Guthrie KA. Efficacy of vaginal Estradiol or Vaginal Moisturizer vs Placebo for Treating Postmenopausal Vulvovaginal Symptoms. **JAMA Intern Med** 2018;178:681-90
69. Bygdeman M, Swahn ML. Replens versus dienoestrol cream in the symptomatic treatment of vaginal atrophy in postmenopausal women. **Maturitas** 1996;23:259-63
70. Ekin M, Yasar , Savan K, Temur M, Uhri M, Gencer I, Kivanc E. The comparison of hyaluronic acid vaginal tablets with estradiol vaginal tablets in the treatment of atrophic vaginitis: a randomized controlled trial. **Arch Gynecol Obstet** 2011;283:539-43
71. Jokar A, Davari T, Asadi N, Ahmadi F, Foruhari S. Comparison of Hyaluronic Acid Vaginal Cream and Conjugated Estrogen Used in Treatment of Vaginal Atrophy of

- Menopause Women: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Int J Community Based Nurs Midwifery* 2016;4:69-78
72. Van der Laak JAWM, de Bie LMT, de Leeuw H, de Wilde PCM, Hanselaar AGJM. The effect of Replens on vaginal cytology in the treatment of postmenopausal atrophy: cytomorhology versus computerized cytometry. *J Clin Pathol* 2002;55:446-51
73. Dezzutti CS, Brown ER, Moncla B, Russo J, Cost M, Wang L, Urankler K, Kunjara Na Ayudha RP, Pryke K, Pickett J, Leblanc MA, Rohan LC. Is watter better? An evaluation of over-the-counter personal lubricants for safety and anti-HIV-1 activity. *PLoS One* 2012;7:e48328
74. Brown JM, Hess KL, Brown S, Murphy C, Wadman AL, Hezareh M. Intravaginal practices and risk of bacterial vaginosis and candidiasis infection among a cohort of women in the United States. *Obstet Gynecol* 2013;121:773-80
75. Pitsouni E, Grigoriadis T, Douskos A, Kyriakidou M, Flagas ME, Athanasiou S. Efficacy of vaginal therapies alternative to vaginal estrogens on sexual function and orgasm of menopausal women: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2018;229:45-56
76. Domoulin C, Cacciari LP, Hay-Smith EJC. Pelvic floor muscle training versus no treatment, or inactive control treatments, for urinary incontinence in women. *Cochrane Database Syst Rev* 2018;10:CD005654
77. Monteiro S, Riccetto C, Araujo A, Galo L, Brito N, Botelho S. Efficacy of pelvic floor muscle training in women with overactive bladder syndrome: a systematic review. *Int Urogyn J* 2018;29:1565-73
78. Mercier J, Morin M, Lemieux MC, Reichetzer B, Khalife S, Dumoulin C. Pelvic floor muscles training to reduce symptoms and signs of vulvovaginal atrophy: a case study. *Menopause* 2016;23:816-20
79. Stein A, Sauder AK, Reale J. The Role of Physical Therapy in Sexual Health in Men and Women: Evaluation and Treatment. *Sex Med Rev* 2019;7:45-56
80. Capobianco G, Donolo E, Borghero G, Dessole F, Cherchi PL, Dessole S. Effects of intravaginal estriol and pelvic floor rehabilitation on urogenital aging in postmenopausal women. *Arch Gynecol Obstet* 2012;285:397-403
81. Tam T, Levine EM. Female Sexual Dysfunction in Women with Pelvic Pain. *Semin Reprod Med* 2018;36:152-8
82. Rahn DD, Carberry C, Sanses TV, Mamik MM, Ward RM, Meriwether KV, Olivera CK, Abed H, Balk EM, Murphy M, for the Society of gynecologic Surgeons Systematic

- Review Group. Vaginal Estrogen for Genitourinary Syndrome of Menopause: A Systematic Review. **Obstet Gynecol** 2014;124:1147-56
83. Rueda C, Ososrio AM, Avellaneda AC, Pinzon CE, Restrepo OI. The efficacy and safety of estriol to treat vulvovaginal atrophy in postmenopausal women: a systematic literature review. **Climacteric** 2017;20:321-30
84. Suckling J, Lethaby A, Kennedy R. Local oestrogen for vaginal atrophy in postmenopausal women. **Cochrane Database Syst Rev** 2006;CD001500
85. Robinson D, Cardozo L, Milsom I, Espuna Pons M, Kirby M, Koelbl H, Vierhout M. Oestrogens and Overactive Bladder. **Neurol Urodyn** 2014;33:1086-91
86. Rufford J, Hextall A, Cardozo L, Khullar V. A double-blind placebo-controlled trial in the effects of 25 mg estradiol implants on the urge syndrome in postmenopausal women. **Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct** 2003;14:78-83
87. Cody JD, Jacobs ML, Richardson K, Moehrer B, Hextall A. Oestrogen therapy for urinary incontinence in post-menopausal women. **Cochrane Database Syst Rev** 2012;10:CD001405
88. Goldstein I. Recognizing and treating urogenital atrophy in postmenopausal women. **J Womens Health** 2010;19:425-32
89. Portman DJ, Bachmann GA, Simon JA; Ospemifene Study Group. Ospemifene, a novel selective estrogen receptor modulator for treating dyspareunia associated with postmenopausal vulvar and vaginal atrophy. **Menopause** 2013;20:623-30
90. Bachmann GA, Komi JO; Ospemifene Study Group. Ospemifene effectively treats vulvovaginal atrophy in postmenopausal women: results from a pivotal phase 3 study. **Menopause** 2013;20:418-27
91. Portman DJ, Goldstein SR, Kagan R. Treatment of moderate to severe dyspareunia with intravaginal prasterone therapy: a review. **Climacteric** 2019;22:65-72
92. Labrie F, Derogatis L, Archer DF, Koltun W, Vachon A, Young D, Frenette L, Portman D, Montesino M, Cote I, Parent J, Lavole L, Beauregard A, Martel C, Vaillancourt M, Balsler J, Moyneur E; Members of the VVA Prasterone Research Group. Effect of Intravaginal Prasterone on Sexual Dysfunction in Postmenopausal Women with Vulvovaginal Atrophy. **J Sex Med** 2015;12:2401-12
93. Kingsberg SA, Althof S, Simon JA, Bradford A, Bitzer J, Carvalho J, Flynn KE, Nappi RE, Reese JB, Rezaee RL, Schover L, Shifrin JL. Female Sexual Dysfunction-Medical and Psychological Treatments Committee 14. **J Sex Med** 2017;14:1463-91
94. Domoney C. Treatment of vaginal atrophy. **Womens Health** 2014;10:191-200

95. Davis SR, Robinson PJ, Jane F, White S, White M, Bell RJ. Intravaginal Testosterone Improves Sexual Satisfaction and Vaginal Symptoms Associated With Aromatase Inhibitors. **J Clin Endocrinol Metab** 2018;103:4146-54
96. Witherby S, Johnson J, Demers L, Mount S, Littenberg B, Maclean CD, Wood M, Muss H. Topical testosterone for breast cancer patients with vaginal atrophy related to aromatase inhibitors: a phase I/II study. **Oncologist** 2011;16:424-31
97. Melisko ME, Goldman ME, Hwang J, De Luca A, Fang S, Esserman LJ, Chien AJ, Park JW, Rugo HS. Vaginal Testosterone Cream vs Estradiol Vaginal Ring for Vaginal Dryness or Decreased Libido in Women Receiving Aromatase Inhibitors for Early-Stage Breast Cancer: A Randomized Clinical Trial. **JAMA Oncol** 2017;3:313-9
98. O'Dell K. Pharmacologic Management of Bladder Dysfunction in Adult Women. **JOGNN** 2014;43:253-63
99. Pratt TS, Suskind AM. Management of Overactive Bladder in Older Women. **Curr Urol Rep** 2018;19:92
100. Robinson D, Cardozo L. Overactive bladder: Diagnosis and management. **Maturitas** 2012;71:188-93
101. Corcos J, Przydacz M, Campeau L, Witten J, Hickling D, Honeine C, Radomski SB, Stothers L, Wagg A. CUA guideline on adult overactive bladder. **Can Urol Assoc J** 2017;11:E142-73
102. Leron E, Weintraub AY, Mastrolia SA, Swarczman P. Overactive Bladder Syndrome: Evaluation and Management. **Curr Urol** 2017;11:117-25
103. Ellington DR, Szychowski JM, Malek JM, Gerten KA, Burgio KL, Richter HE. Combined Tolterodine and Vaginal Estradiol Cream for Overactive Bladder Symptoms after Randomized Single-Therapy Treatment. **Female Pelvic Med Reconstr Surg** 2016;22:254-60
104. Peeker R, Samsioe G, Kowalski J, Adersson AS, Bergqvist A. A prospective observational study of the effects of treatment with extended-release tolterodine on health-related quality of life of patients suffering overactive bladder syndrome in Sweden. **Scand J Urol Nephrol** 2010;44:138-46
105. Sexton CC, Notte SM, Maroulis C, Dmochowski RR, Cardozo L, Subramanian D, Coyne KS. Persistence and adherence in the treatment of overactive bladder syndrome with anticholinergic therapy: a systematic review of the literature. **Int J Clin Pract** 2011;65:567-85
106. Franck P, Henderson PW, Rothaus KO. Basics of Lasers: History, Physics, and Clinical Applications. **Clin Plastic Surg** 2016;43:505-13

107. Alexiades MR. Wave science in dermatologic therapy. *J Drugs Dermatol* 2015;14:1190
108. Alexiades-Armenakas MR, Dover JS, Arndt KA. The spectrum of laser skin resurfacing: Nonablative, fractional, and ablative laser resurfacing. *J Am Acad Dermatol* 2008;58:719-37
109. Fisher JC. Photons, psychiatrics, and physicians: A practical guide to understanding laser light interaction with living tissue, part 1. *J Clin Laser Med Surg* 1992;10:419-26
110. Anderson R, Parrish JA. Selective photothermolysis: Precise microsurgery by selective absorption of pulsed radiation. *Science, New Series* 1983;220:524-7
111. Capon A, Mordon A. Can thermal laser promote skin wound healing? *Am J Clin Dermatol* 2003;4:1-12
112. Einstein A. Zur Quantentheorie der Strahlung (on the Quantum Theory of radiation]. *Physika Zeitschrift* 1917;18:121-8
113. Larsson U. Cultures of creativity: the centennial exhibition of the Nobel prize. Canton (MA). *Science History Publications*, 2001
114. Reid R, Absten GT. Lasers in gynecology: Why pragmatic surgeons have not abandoned this valuable technology. *Lasers Surg Med Sci* 1995;17:378-83
115. Cooperman AB, DeCherney AH. Turn, turn, turn. *Fertil Steril* 2006;85:12-3
116. Salvatore S, Leone Roberti Maggiore U, Athanasiou S, Origoni M, Candiani M, Calligaro A, Zerbinati N. Histological study on the effects of microablative fractional CO<sub>2</sub> laser on atrophic vaginal tissue: an ex vivo study. *Menopause* 2015;22:845-9
117. Salvatore S, Nappi RE, Zerbinati N, Calligaro A, Ferrero S, Origoni M, Candiani M, Leone Roberti Maggiore U. A 12-week treatment with fractional CO<sub>2</sub> laser for vulvovaginal atrophy: a pilot study. *Climacteric* 2014;17:363-9
118. Salvatore S, Nappi RE, Parma M, Chionna R, Lagona F, Zaerbinati N, Ferrero S, Origoni M, Candiani M, Leone Roberti Maggiore U. Sexual function after microablative CO<sub>2</sub> laser in women with vulvovaginal atrophy. *Climacteric* 2015;18:219-25
119. Perino A, Calligaro A, Forlani F, Tiberio C, Cucinella G, Svelato A, Saitte S, Calagna G. Vulvo-vaginal atrophy: a new treatment modality using thermo-ablative fractional CO<sub>2</sub> laser. *Maturitas* 2015;80:296-301
120. Zerbinati N, Serati m, Origoni M, Candiani M, Iannitti T, Salavatore S, Marotta F, Calligaro A. Microscopic and ultrastructural modifications of postmenopausal atrophic vaginal mucosa after fractional carbon dioxide laser treatment. *Lasers Med Sci* 2015;30:429-36
121. <https://www.monalisatouch.com/smartxide2-v2lr/> (τελευταία πρόσβαση 19.04.2019)



122. Ettinger B, Hait H, Reape KZ, Shu H. Measuring symptom relief in studies of vaginal and vulvar atrophy: the most bothersome symptom approach. *Menopause* 2008;15:885-9
123. Bump RC, Mattiason A, Bo K, Brubaker LP, DeLancey JOL, Klarskov P, Shull BL, Smith ARB. The standardization of terminology of female pelvic organ prolapse and pelvic floor dysfunction. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:10-7
124. Weber MA, Limpens J, Roovers JPWR. Assessment of vaginal atrophy: a review. *Int Urogynecol J* 2015;26:15-28
125. Bachmann G. A new option for managing urogenital atrophy in postmenopausal women. *Contemp Obstet Gynecol* 1997;42:13-28
126. Rosen R, Brown C, Heiman J, Leiblum S, Meston C, Shabsigh R, Ferguson D, D'Agostino R Jr. The Female Sexual Function Index (FSFI): a multidimensional self-report instrument for the assessment of female sexual function. *J Sex Marital Ther* 2000;26:191-208
127. Wiegel M, Meston C, Rose R. The female sexual function index (FSFI): cross validation and development of clinical cutoff scores. *J Sex Marital Ther* 2005;31:1-20
128. Athanasiou S, Grigoriadis T, Kyriakidou N, Giannoulis G, Antsaklis A. The validation of international consultation on incontinence questionnaires in the Greek language. *Nerourol Urol* 2012;31:1141-4
129. Grigoriadis T, Athanasiou S, Giannoulis G, Mylona SC, Lourantou D, Antsaklis A. Translation and psychometric evaluation of the Greek short forms of two conditions-specific quality of life questionnaires for women with pelvic floor disorders: PFDI-20 and PFIQ-7. *Int Urogynecol J* 2013;24:2131-44
130. Nystrom E, Sjostrom M, Stenlund H, Samuelsson. ICIQ Symptom and Quality of Life Instruments Measure Clinically Relevant Improvements in Women With Stress Urinary Incontinence. *Neurol Urol* 2015;34:747-51
131. Ware JE Jr, Kosinski M, Keller SD. A 12-item Short-Form Health Survey: construction of scales and preliminary tests of reliability and validity. *Med Care* 1996;34:220-33
132. Kelleher CJ, Cardozo LD, Khullar V, Salvatore S. A new questionnaire to assess the quality of life of urinary incontinent women. *Br Obstet Gynecol* 1997;104:1374-9
133. Kelleher CJ, Pleil AM, Reese PR, Burgess SM, Brodish PH. How much is enough and who says so. *BJOG* 2004;111:605-12
134. Sherrard J, Donders G, Whote D, Jensen JS; European IUSTI. European (IUSTI/WHO) guideline on the management of vaginal discharge 2011. *Int J STD AIDS* 2011;22:421-97

135. Nugent RP, Krohn MA, Hillier S. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. *J Clin Microbiol* 1991;297-301
136. Ison CA, Hay PE. Validation of a simplified grading of Gram stained vaginal smears for use in genitourinary medicine clinics. *Sex Transm Infect* 2002;78:413-5
137. Donders GG, Vereecken A, Bosmans E, Dekeersmaecker G, Spitz B. Definition of a type of abnormal vaginal flora that is distinct from bacterial vaginosis: aerobic vaginitis. *BJOG* 2002;109:34-43
138. Centers for Disease Control and Prevention. 2015 Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. Diseases Characterized by Vaginal Discharge. Available at: [www.cdc.gov/std/tg2015/ vaginal-discharge.htm](http://www.cdc.gov/std/tg2015/vaginal-discharge.htm). (τελευταία πρόσβαση Φεβρουάριος 12, 2016)
139. Hustin J, Drykoningen GJA. Estrogen treatment of postmenopausal vaginal atrophy - a cytological assessment. *Maturitas* 1979;1:207-13
140. Bachmann G, Bouchard C, Hoppe D, Ranganath R, Altomare C, Vieweg A, Graepel J, Helzner E. Efficacy and safety of low-dose regimens of conjugated estrogens cream administered vaginally. *Menopause* 2009;16:719-27
141. Simon J, Nachtigall L, Gut R, Lang E, Archer DF, Utian W. Effective treatment of vaginal atrophy with an ultra-low-dose estradiol vaginal tablet. *Obstet Gynecol* 2008;112:1053-60
142. Jaisamrarn U, Triratanachat S, Chaikittisilpa S, Grob P, Prasauskas V, Taechakraichana N. Ultra-low-dose estriol and lactobacilli in the local treatment of postmenopausal vaginal atrophy. *Climacteric* 2013;16:347-55
143. Pitsouni E, Grigoriadis T, Falagas ME, Salvatore S, Athanasiou S. Laser therapy for the genitourinary syndrome of menopause. A systematic review and meta-analysis. *Maturitas* 2017;103:78-88
144. Cano A, Estevez J, Usandizaga R, Gallo JL, Guinot M, Delgado JL, Castellanos E, Moral E, Nieto C, del Prado JM, Ferrer J. The therapeutic effect of a new ultra- low concentration gel formulation (0.005% estriol vaginal gel) on symptoms and signs of postmenopausal vaginal atrophy: results from a pivotal phase III study. *Menopause* 2012;19:1130-9
145. Lester J, Pahouja G, Andersen B, Lustberg M. Atrophic vaginitis in breast cancer survivors: a difficult survivorship issue. *J Pers Med* 2015;5:50-66

146. Caruso S, Cianci S, Amore FF, Ventura B, Bambili E, Spadola S, Cianci A. Quality of life and sexual function of naturally postmenopausal women on an ultralow-concentration estriol vaginal gel. *Menopause* 2016;23:47-54
147. Chen J, Geng L, Song X, Li h, Giordan N, Liao Q. Evaluation of the efficacy and safety of hyaluronic acid vaginal gel to ease vaginal dryness: a multicenter, randomized, controlled, open-label, parallel-group, clinical trial. *J Sex Med* 2013;10:1575-84
148. Ayton RA, Darling GM, Murkies AL, Farell EA, Weisberg E, Selinus I, Fraser ID. A comparative study of safety and efficacy of continuous low dose oestradiol released from a vaginal ring compared with conjugated equine oestrogen vaginal cream in the treatment of postmenopausal urogenital atrophy. *Br J Obstet Gynecol* 1996;103:351-8
149. Smith P, Heimer G, Linskog M, Ulmsten U. Oestradiol-releasing vaginal ring for the treatment of postmenopausal urogenital atrophy. *Maturitas* 1993;16:145-54
150. Ekin M, Yasar L, Temur M, Uhri M, Gencer I, Kivanc E. The comparison of hyaluronic acid vaginal tablets with estradiol vaginal tablets in the treatment of atrophic vaginitis: a randomized controlled trial. *Arch Gynecol Obstet* 2011;283:539-43
151. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SS, McCulle SL, Karlebach S, Gorle R, Russell J, Tacket CO, Britman RM, Davis CC, Ault K, Peralta L, Forney LJ. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *PNAS* 2011;108:4680-7
152. Buston JP, Reid G. Evaluation of the bacterial vaginal flora of 20 postmenopausal women by direct (Nugent score) and molecular (polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis) techniques. *J Infect Dis* 2002;186:1770-80
153. North American Menopause Society. The role of local estrogen for treatment of vaginal atrophy in postmenopausal women: 2007 position statement of the North American Menopause Society. *Menopause* 2007;14:355-69
154. Raz R, Stamm WE. A controlled trial of intravaginal estriol in postmenopausal women with recurrent urinary tract infections. *N Engl J Med* 1993;329:753-6
155. Ozkinay E, Terek MC, Yayci M, Kaiser R, Grob P, Tuncay G. The effectiveness of live lactobacilli in combination with low dose estriol (Gynoflor) to restore the vaginal flora after treatment of vaginal infections. *BJOG* 2005;112:234-40
156. Juliato CR, Baccaro LF, Pedro AO, Gabiati JR, Lui-Filho JF, Costa-Paiva L. Factors associated with urinary incontinence in middle-aged women: a population-based household survey. *Int Urogynecol J* 2017;28:423-9

157. Salvatore S, Pitsouni E, Del Deo F, Parma M, Athanasiou S, Candiani M. Sexual Function in Women Suffering From Genitourinary Syndrome of Menopause Treated With Fractionated CO<sub>2</sub>-laser. ***Sex Med Rev*** 2017;5:486-94



## Microablative fractional CO<sub>2</sub>-laser therapy and the genitourinary syndrome of menopause: An observational study



Eleni Pitsouni (MD)<sup>a</sup>, Themos Grigoriadis (MD)<sup>a</sup>, Angeliki Tsiveleka<sup>b</sup>,  
Dimitris Zacharakis (MD)<sup>a</sup>, Stefano Salvatore (MD)<sup>c</sup>,  
Stavros Athanasiou (MD) (Associate Professor)<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Urogynecology Unit, 1st Department of Obstetrics and Gynecology, "Alexandra" Hospital, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

<sup>b</sup> Cytology Department, "Alexandra Hospital", Athens, Greece

<sup>c</sup> Obstetrics and Gynecology Unit, Vita-Salute San Raffaele University, IRCCS San Raffaele Hospital, Urogynecology Unit, Milan, Italy

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 18 July 2016

Received in revised form 31 August 2016

Accepted 14 September 2016

#### Keywords:

Menopause  
Urinary incontinence  
Urgency  
Sexual function  
Dyspareunia  
Vulvovaginal atrophy

### ABSTRACT

**Objectives:** This study aimed to assess the effect of the Microablative Fractional CO<sub>2</sub> Laser (CO<sub>2</sub>-laser) therapy on vaginal pathophysiology and the symptoms of the Genitourinary Syndrome of Menopause (GSM).

**Methods:** Postmenopausal women with moderate to severe symptoms of GSM underwent three sessions of CO<sub>2</sub>-laser therapy at monthly intervals. Participants were evaluated at baseline and 4 weeks after the last treatment.

**Main outcome measures:** The primary outcomes were Vaginal Maturation Value (VMV) and Vaginal Health Index Score (VHIS). Secondary outcomes included symptoms of GSM, Female Sexual Function Index (FSFI), International Consultation on Incontinence Questionnaire of Female Urinary Tract Symptoms (ICIQ-FLUTS) and Urinary Incontinence Short Form (ICIQ-UI SF), Urogenital Distress Inventory (UDI-6) and King's Health Questionnaire (KHQ).

**Results:** Fifty-three postmenopausal women completed this study. VMV, VHIS and FSFI increased significantly. Dyspareunia, dryness, burning, itching, dysuria, frequency, urgency, urgency incontinence, stress incontinence and scores on the ICIQ-FLUTS, ICIQ-UI SF, UDI-6 and KHQ decreased significantly. Factors predicting for which women the CO<sub>2</sub>-laser therapy was more effective were not identified.

**Conclusion:** This study suggests that intravaginal CO<sub>2</sub>-laser therapy for postmenopausal women with clinical signs and symptoms of GSM may be effective in improving both vaginal pathophysiology and reported symptoms.

© 2016 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

The Genitourinary Syndrome of Menopause (GSM) affects menopausal women due to the decline mainly of estrogens involving clinical signs and symptoms from both the genital and the lower urinary tract (LUTS) [1]. Women may present with some or all of the clinical signs and symptoms [1]. The GSM definition was introduced to describe more accurately the urogenital changes and the local symptoms appearing at menopause in comparison to the terms of vulvovaginal atrophy (VVA)/atrophic vaginitis [1].

The principles of treatment of VVA are the restoration of urogenital physiology and the alleviation of symptoms [2]. The therapeutic options for VVA can include non-hormonal local therapies (i.e. lubricants, moisturizers) or hormonal ones (i.e. low-dose vaginal estrogens). However, the 2 principles of treatment usually are not achieved. Lubricants offer a temporary relief of vaginal symptoms, without restoration of urogenital physiology. Moisturizers improve lubrication but have no effect on the overall vaginal maturation index/value (VMI/VMV) [2,3]. Lubricants and moisturizers are less effective than the local hormonal therapy [2]. Low-dose vaginal estrogens fulfill both treatment principles for symptoms of VVA [2,4] and LUTS [5] and may provide substantial alleviation of symptoms in patients with more severe GSM [5].

Intravaginal Microablative Fractional CO<sub>2</sub> Laser (CO<sub>2</sub>-Laser) is a new non-hormonal proposal for the management of the VVA [6–9].

\* Corresponding author.

E-mail addresses: [athanasio@otenet.gr](mailto:athanasio@otenet.gr), [stavros.athanasiou@gmail.com](mailto:stavros.athanasiou@gmail.com) (S. Athanasiou).

Current data are promising regarding the effectiveness of CO<sub>2</sub>-Laser in postmenopausal women [6–9]. However, there are limitations in the available data; there are pilot studies focusing mainly in the symptoms of VVA and not the GSM as a whole (VVA-symptoms, sexual function and LUTS). Furthermore, sample size and effect size of the analyzed finding have not yet been calculated and there is lack of data regarding the impact of the CO<sub>2</sub>-Laser therapy in the LUTS and the changes of the VMI/VMV.

The aim of the current study was to assess the effectiveness of the CO<sub>2</sub>-Laser in postmenopausal women with clinical signs and symptoms of GSM focusing in both the genital and the lower urinary tract and both principles of the treatment. Additionally, we aimed to address possible factors of predicting the improvement of symptoms of CO<sub>2</sub>-laser therapy.

## 2. Methods

This prospective observational study was performed at the outpatient clinic of the Urogynecologic Unit of a tertiary Hospital. The study protocol was approved by the Ethics Committee. All participants signed an informed consent form.

Eligibility criteria for participating in the current study were: menopause,  $\geq 1$  symptom of GSM with moderate-severe intensity and clinical signs of GSM [1].

Exclusion criteria were: use of any form of hormone therapy (systemic or local) within the previous 6 months, use of lubricants or vaginal moisturizers within the last month, active genital infections, prolapse stage  $\geq II$  according to the pelvic organ prolapse quantification (POP-Q) system [10], and any disease that would interfere with compliance to the protocol.

Postmenopausal women with symptom/s of GSM, were asked to complete a questionnaire reporting their symptom/s (dyspareunia, genital dryness, burning, itching, dysuria, urinary frequency, urgency), followed by a 10-cm Visual Analogue Scale (VAS) of the severity of each symptom, in which zero applied to “absence of symptom” and ten to “symptom as bad as could be”. A score of 4–7 was considered moderate and a score of 8–10 severe. Women with moderate/severe symptom/s were further evaluated by clinical examination assessing clinical signs of GSM and POP-Q. The clinical signs assessed were pallor, erythema, loss of vaginal rugae, epithelial integrity, petechiae and tissue fragility [1].

Eligible participants were allocated at a randomly generated number that was different in each visit and entered in a database. The cytologists and the pH-evaluator were blind to all clinical information. The cytological samples were evaluated by 2 independent cytologists and any discrepancies were resolved by reporting the mean value of findings. A vaginal smear was obtained from the lateral vaginal wall using a spatula and stained according to the Papanicolaou technique. The VMI was evaluated by defining the percentage of superficial, intermediate and parabasal epithelial cells on the smear, followed by the calculation of the VMV  $[(1 \times \% \text{superficial}) + (0.5 \times \% \text{intermediate}) + (0 \times \% \text{parabasal})]$  [11]. VMV is considered to be an indicator of the estrogenic stimulation, whereas values of 0–49%, 50–64% and 65–100% indicate absent/low, moderate and high estrogenic effect on the vaginal epithelium, respectively [11].

The evaluation of the clinical signs was performed by 2 independent gynecologists blind to all clinical information. Any discrepancies were resolved by reporting the mean value of findings. During the clinical examinations the evaluators could not guess the identity of the participant and thus the treatment status, using a curtain at the median abdominal site of the participant. The clinical signs evaluated according to Vaginal Health Index Score (VHIS), which includes elasticity, fluid volume, pH and epithelial integrity as components [8,9,11].

Participants of the study protocol received intravaginal therapy once a month for 3 months, with CO<sub>2</sub>-Laser system (SmartXide<sup>2</sup> V<sup>2</sup>LR, Monalisa Touch, DEKA, Florence, Italy). The settings and procedures were performed as previously described [9,12].

The efficacy of the CO<sub>2</sub>-Laser on VVA-symptoms was measured using the following questionnaires: frequency of sexual intercourse/month, 10cm-VAS questionnaire for the intensity of dyspareunia, genital dryness, burning, itching and dysuria, 10cm-VAS questionnaire for the overall sexual satisfaction, Female Sexual Function Index (FSFI) [13] and 10cm-VAS questionnaire for the pain during the insertion of the vaginal speculum. The efficacy of the CO<sub>2</sub>-Laser on the LUTS was measured using the International Consultation on Incontinence Questionnaires (ICIQ) modules [14–16]: ICIQ-Female Urinary Tract Symptoms (ICIQ-FLUTS Filling Domain) and ICIQ- Urinary Incontinence Short Form (ICIQ-UI SF). Patients also completed the Urogenital Distress Inventory (UDI-6), and the King's Health Questionnaire (KHQ). The participants completed all the questionnaires at the baseline and 4-weeks after the last laser therapy (12-weeks follow-up). Satisfaction of the treatment was assessed with the Patients Global Impression of Improvement (PGI-I) at 12-weeks' follow-up. The participants completed the questionnaires without any interference from the researchers involved in the current study. For the KHQ the minimal important clinical difference (MICD) (the smallest change in score that patients perceive as beneficial) was set at –5 points for each KHQ domain [17].

As primary outcomes were regarded the changes of the objective assessment tools of VMV and VHIS. As secondary outcomes were regarded the changes of the subjective assessment tools as evaluated by the above mentioned questionnaires and the evaluation of possible predicting factors of the CO<sub>2</sub>-Laser efficacy.

### 2.1. Statistical analysis

Statistical analysis was performed comparing baseline data and 12-weeks' follow-up data. A priori calculation of the sample size required for the primary efficacy outcomes to achieve a power of 90%, level of significance 5% and effect size derived from the previously published pilot study [12]. Due to the large size effect of the VHIS in the pilot study and the small sample size required for the current study, we calculated a sample size based on the VMV. The changes of the VMV after the CO<sub>2</sub>-Laser have not been reported in previous studies, thus we used a level of significance 5%, power of study 90% and a hypothetical effect size of 0.5 (medium effect). The required sample would be 47 participants. Considering a 10% drop-out rate, 52 participants would be necessary to be included. Post-hoc computing of the power of study and effect size of all the outcomes was performed using the G-power statistical software. The distribution of data was assessed using the Shapiro-Wilk test. For abnormally distributed variables Wilcoxon signed-rank test for related paired samples and Spearman correlation coefficient was used. For categorical variables chi-square test was used. Logistic regression analyses were performed using as dependent variables the presence or absence of symptom/s and thresholds of 15 and 49 for VHIS and VMV, respectively at the 12-weeks' follow-up. All tests were based on a significance level of 5% ( $p$ -value < 0.05). Data were presented as mean  $\pm$  SD and as percentages (%). SPSS statistical software was used for the analyses.

## 3. Results

Fifty-eight women were eligible to be included in the study. Three women declined the protocol, as it was difficult for them to follow the protocol schedule and 2 hesitated to participate due to the novelty of the therapy. The protocol was possible in all eli-

**Table 1**  
Baseline characteristics of the participants in the study.

Number (N)	53
Age	57.2 ± 5.4 <sup>a</sup>
BMI	26.0 ± 4.8 <sup>a</sup>
Years since last menstrual period	8.9 ± 6.6 <sup>a</sup>
Level of Education	
University	42/53 (79)
Secondary	11/53 (21)
Smokers	
Yes	16/53 (31)
No	37/53 (70)
Number of cigarettes/day	13.9 ± 6.8 <sup>a</sup>
Married	
Yes	45/53 (85)
No	8/53 (15)
Sexual activity	
Yes	25/53 (47)
No	28/53 (53)
Causes for no sexual activity	
Vulvovaginal symptoms	16/28 (57)
No sexual partner	7/28 (25)
Other	5/28 (18)

<sup>a</sup> Data are displayed as mean ± SD. All other data are displayed as percentages.

gible women despite the severity of the vaginal atrophy. Thus, fifty-three participants (mean age 57.2 ± 5.4 years) were enrolled in this study, their baseline characteristics are presented in Table 1. All participants completed the study protocol without any serious side effects. Only a temporary mild irritation of the introitus was noted that started immediately after the laser treatment, lasted up to 2 h and resolved spontaneously.

The VMV and the VHIS increased significantly after the completion of the study protocol (Table 2). At the baseline none of the participants had VMV > 49% and VHIS > 15. At the 12-weeks' follow-up 57% (30/53) and 89% (47/53) of the participants had VMV > 49% and VHIS > 15, respectively. The participants that could not overpass the thresholds of VMV > 49% and VHIS > 15, had an improvement of 10–40% and 57–180%, respectively. At the baseline VMV was correlated with the years since last period ( $r=0.4$ ,  $p=0.003$ ), but at the 12-weeks' follow-up this correlation was not present.

The severity and the presence of VVA-symptoms decreased significantly, while the sexual function (as assessed by the FSFI) improved significantly (Table 3). At the baseline the presence of severe and moderate intensity of the VVA-symptom/s was 49% (26/53) and 51% (27/53), respectively. At the 12-weeks' follow-up the presence of severe, moderate, mild and zero intensity of the VVA-symptoms was 2% (1/53), 13% (7/53), 51% (27/53) and 34% (18/53), respectively. The 8 participants presenting with moderate to severe symptoms at the 12-weeks' follow-up had severe symptoms at the baseline. The improvement of symptoms in these participants varied from 20 to 60%.

All but one of the participants (15/16) who did not have sexual activity at baseline, due to GSM symptoms, resumed their sexual activity. The participant who did not resume sexual activity was due to personal reasons. The frequency of sexual intercourse/month increased significantly from a mean 1.6 ± 2.1 to 4.1 ± 2.1 ( $p < 0.001$ , effect size 1.5).

LUTS were improved significantly as reflected by the significant reduction of the scores of ICIQ-FLUTS, UDI-6, ICIQ-UI SF and KHQ (Table 4). At the baseline 40% (21/53), 34% (18/53), 23% (12/53) and 4% (2/53) of the participants passed urine during the day 1–6, 7–8, 9–10 and ≥ 13 times, respectively. At the 12-weeks' follow-up 47%

(25/53), 47% (25/53), 4% (2/53) and 2% (1/53) passed urine during the day 1–6, 7–8, 9–10, and 11–12 times, respectively. The change of KHQ questionnaire was > 5 points in all participants. A history of recurrent urinary tract infections was present in 4% (2/53) of the participants. However, relevant symptoms were not reported at the baseline or during the study protocol.

At the PGI-I 30% (16/53), 60% (32/53) and 9% (5/53) of the participants reported very much better, much better and a little better, respectively.

At the logistic regression analyses the results were as follows: 1) VMV and VHIS increased independently of the participants' baseline characteristics (i.e years since last period), 2) The presence or absence of VVA symptoms at the 12-weeks' follow-up was independent of the participants' baseline characteristics and 3) No predictor of the intensity of the VVA symptoms at the 12-weeks' follow-up was identified.

#### 4. Discussion

This study assesses the efficacy of CO<sub>2</sub>-Laser therapy in postmenopausal women with clinical signs and symptoms of GSM as a whole, focusing not only in the genital tract but also in the lower urinary tract. This efficacy was assessed in both principles of treatment (improvement of local pathophysiology and alleviation of symptoms) and it was independent to the participants' baseline characteristics (i.e years since last period). In particular, improvement following the CO<sub>2</sub>-Laser was observed on VMV, VHIS, VVA symptoms, LUTS, sexual female function and general health perception of the women. This improvement was not only statistical significant but also clinically meaningful. This finding was ratified by the PGI-I. The majority of the participants expressed they felt “much better” or “very much better” after the end of the therapeutic protocol.

The VMI and the VMV are considered an inexpensive measurement of evaluating the hormonal status of women [11]. A negative correlation between the years since last period and VMV exists [18]. Hence, VMV is recommended in the evaluation of the VVA [11,18] and it is used often as a measurement of the local vaginal therapy [3,11,18–21]. The vaginal estrogens have been proved to induce the vaginal mucosal maturation with a significant rise of the VMV [18–21]. In our study the significant increase of the VMV by the use of CO<sub>2</sub>-Laser indicates the estrogen-like effect of the therapy. At the baseline VMV was correlated with the years since last period indicating the hormonal status. However, at the 12-weeks' follow-up such correlation was absent, confirming further the estrogen-like effect of the CO<sub>2</sub>-Laser on the vaginal mucosal.

Moreover, the VHIS increased significantly indicating the positive effect of the CO<sub>2</sub>-Laser on vaginal health. This effect was in accordance to the findings of previous studies [7–10]. The improvement of the VHIS was observed as soon as 1 month after the first therapy [10]. However, the percentage of the participants that reached non-atrophic values of VHIS after the completion of the CO<sub>2</sub>-Laser therapy, have not been previously reported. In our study, at the 12 weeks' follow-up, non-atrophic values of the VHIS were observed in 89% of the participants, independently of their baseline characteristics.

The VVA-symptoms at the end of our therapeutic protocol decreased in both prevalence and intensity. All participants experienced improvement in VVA-symptoms. Indeed, even those that reported moderate to severe intensity of VVA symptoms at the end of the protocol, showed a symptomatic improvement up to 60%. Additionally, the sexual function of the participants improved significantly as reflected by the FSFI. It is noteworthy, that all the components of the FSFI (desire, arousal, orgasm, lubrication, satisfaction and pain) changed to clinically meaningful better status as

**Table 2**  
Changes of the primary outcomes (Vaginal Health Index (VHIS), Vaginal Maturation Value (VMV) and their components) of the study.

	Baseline (n = 53) <sup>b</sup>	12 weeks follow-up (n = 53) <sup>b</sup>	Mean of difference ± SD of difference (n = 53) <sup>b</sup>	p-value <sup>b</sup>	Effect size <sup>b</sup>	Power of the study <sup>b</sup>
VMV <sup>a</sup>	11.7 ± 15.6	44.2 ± 13.7	32.4 ± 15.2	<0.001	2.1	100%
Parabasal epithelial cells <sup>a</sup>	74.6 ± 31.6	16.2 ± 23.9	-57.6 ± 29.9	<0.001	1.9	100%
Intermediate epithelial cells <sup>a</sup>	24.6 ± 31.7	80.0 ± 23.4	55.6 ± 30.6	<0.001	1.8	100%
Superficial epithelial cells <sup>a</sup>	0 ± 0	3.3 ± 4.9	3.3 ± 4.9	<0.001	0.7	99%
VHIS <sup>a</sup>	8.4 ± 2.5	20.1 ± 3.0	11.6 ± 2.9	<0.001	4	100%
Elasticity	1.6 ± 0.8	4.2 ± 0.9	2.6 ± 0.9	<0.001	2.9	100%
Fluid Volume	1.0 ± 0	3.1 ± 0.9	2.1 ± 0.9	<0.001	2.3	100%
pH	2.7 ± 1.1	4.2 ± 1.7	1.5 ± 1.0	<0.001	1.5	100%
Epithelial Integrity	1.3 ± 0.9	4.1 ± 1.7	2.8 ± 1.8	<0.001	1.6	100%
Moisture	1.8 ± 1.2	3.1 ± 0.9	2.7 ± 1.2	<0.001	2.3	100%

<sup>a</sup> Parabasal epithelial cells, Intermediate epithelial cells and superficial epithelial cells were quantified as percentages in the vaginal smear. VMV was calculated using the formula ((1×%superficial) +(0.5×%intermediate) +(0×%parabasal)) [11]. VHIS is calculated by adding the scores of the 5 components: Elasticity, fluid volume, pH, epithelial integrity and moisture [12–14]. Each component could receive a score from 1 (poorest) to 5 (best). The sum of the 5 components could receive an upper bound score of 25 and lower bound of 5. A Score of ≤15 defined the presence of vaginal atrophy [8,9,11].

<sup>b</sup> Mean ± SD values of the outcomes are presented. Wilcoxon signed rank-test for paired samples was used for the statistical analysis. Effect size was calculated based on Cohen's d, derived from the mean of difference ±SD of difference using the G-power statistical program. The thresholds for the interpretation of the effect size were 0.2, 0.5 and 0.8 for small, medium and large respectively. The power of study was calculated post-hoc for the effect size of each outcome at a level of significance 5% and the given number of participants.

**Table 3**  
Changes of the symptoms from the Genital Tract System and the Female Sexual Function Index (FSFI) of participants in the current study.

	Baseline <sup>a</sup>	12 weeks follow-up <sup>a</sup>	Mean of difference ± SD of difference	p-value <sup>b</sup>	Effect size <sup>b</sup>	Post –hoc power of the study <sup>b</sup>
Dyspareunia	7.7 ± 2.5 (98)	2.3 ± 2.2 (71)	5.4 ± 2.6	<0.001(<0.001)	2.1	100%
Genital dryness	6.1 ± 3.1 (87)	1.7 ± 1.9 (53)	4.3 ± 2.9	<0.001(<0.001)	1.5	100%
Burning	1.3 ± 2.9 (22)	0.3 ± 0.9 (12)	1.1 ± 2.4	0.003 (0.04)	0.5	94%
Itching	1.7 ± 3.2 (22)	0.3 ± 1.2 (8)	1.6 ± 3.1	0.002 (0.03)	0.5	94%
Dysuria	0.9 ± 1.7 (34)	0.3 ± 0.7 (13)	0.7 ± 1.1	0.01(<0.001)	0.6	98%
Total	7.4 ± 2.1	1.8 ± 1.8	5.6 ± 1.9	<0.001	3	100%
Pain during the insertion of the speculum	4.9 ± 2.6	1.5 ± 1.9	3.4 ± 2.7	<0.001	1.3	100%
FSFI						
Desire	2.4 ± 0.9	3.8 ± 1.0	1.5 ± 1.0	<0.001	1.5	100%
Arousal	2.1 ± 1.5	3.9 ± 0.9	1.7 ± 1.4	<0.001	1.2	100%
Lubrication	2.5 ± 1.9	4.5 ± 0.9	2.0 ± 1.6	<0.001	1.3	100%
Orgasm	2.2 ± 1.8	4.4 ± 1.0	2.2 ± 1.7	<0.001	1.3	100%
Satisfaction	2.6 ± 1.3	4.6 ± 0.9	1.9 ± 1.4	<0.001	1.3	100%
Pain	1.9 ± 1.6	4.7 ± 1.0	2.8 ± 1.8	<0.001	1.6	100%
Total	13.7 ± 8.1	25.9 ± 4.6	12.1 ± 8.1	<0.001	1.5	100%
Overall satisfaction with sexual life	2.3 ± 2.8	6.5 ± 2.3	3.5 ± 3.6	<0.001	1	100%

<sup>a</sup> The presence of each symptom and the calculated p-value of the presence decrease is presented in the parenthesis. The mean values and the presence of all but one symptoms were calculated using the overall number of participants (n = 53). FSFI (mean values) and dyspareunia (mean values and presence) was calculated using the number of participants having sexual intercourse or willing to have sexual intercourse but vulvovaginal symptoms forbade them (n = 40). Mean ± SD values of the outcomes are presented.

<sup>b</sup> Wilcoxon signed rank-test for paired samples was used for the statistical analysis. Effect size was calculated based on Cohen's d, derived from the mean of difference ± SD of differences using the G-Power statistical program. The thresholds for the interpretation of the effect size were 0.2, 0.5 and 0.8 for small, medium and large respectively. The power of study was calculated post-hoc for the effect size of each outcome at a level of significance 5% and the given number of participants.

it was implied by the large effect sizes (all ≥ 1.3) of the statistically significant results. Furthermore, the significant increase in the frequency of the sexual intercourse, ratified the findings of the FSFI. The above described findings are in accordance to those of previous studies [6–9].

In addition, in our study LUTS improved significantly (in severity and prevalence), as it was shown by the ICIQ-FLUTS, ICIQ-UI SF and UDI-6 after the CO<sub>2</sub>-Laser. Even though in UDI-6 the difficulty of emptying the bladder or the lower abdominal pain, did not reduce significantly after the CO<sub>2</sub>-Laser, these are not considered GSM symptoms. Nevertheless, the improvement of the LUTS after the CO<sub>2</sub>-Laser was also observed in the KHQ. The MID threshold of 5-point improvement [16], was exceeded in our study in all of its domains, indicating its important effect at the patient level.

In previous studies the efficacy on the Quality of life of the women treated with the CO<sub>2</sub>-Laser was assessed by the SF-12, which is a generic questionnaire, not orientated in women with urinary incontinence [7,9,21]. ICIQ-FLUTS, UDI-6, ICIQ-SF and KHQ are considered to be reliable instruments for assessing the LUTS

and their impact in the Quality of Life [16,23–26]. They are usually used for the evaluation of the treatment success of urinary incontinence [22,25]. The findings of the current study indicate that the CO<sub>2</sub>-Laser has a positive effect to the lower urinary tract resulting in treatment success of LUTS.

A limitation of the current study is the lack of a control group (i.e pelvic floor physical therapy), as the objective was to evaluate changes before and after the CO<sub>2</sub>-Laser therapy in women with GSM as a whole and not to compare its efficacy with other treatment modalities. Thus, a hypothesis of placebo effect of the CO<sub>2</sub>-Laser therapy cannot be overruled. However, pathophysiological findings had similar improvement to the decrease of GSM symptoms, implying that probably placebo is not the mechanism of the CO<sub>2</sub>-Laser effect. Another potential limitation is the relatively small sample size. Moreover, this study was designed to include women with ≥ 1 symptom of GSM with moderate/severe intensity regardless of symptoms' origin (genital or lower urinary tract). VVA-symptoms in contrast to LUTS were regarded as the most bothering symptoms by all participants. Moreover, voiding times were calculated



**Table 4**

Changes of the International Consultation on Incontinence Questionnaire Female Lower Urinary tract systems (ICIQ-FLUTS Filling Domain) and Urinary Incontinence Short-Form (ICIQ-UI SF), Urogenital Distress Inventory (UDI-6) and King's Health Questionnaire (KHQ).

	Baseline <sup>a</sup>	12 weeks follow-up <sup>a</sup>	Mean of difference ± SD of difference	p-value <sup>b</sup>	Effect size <sup>b</sup>	Post-hoc power of the study <sup>b</sup>
ICIQ-FLUTS (n = 53) (Filling Domain)	3.6 ± 2.4	1.6 ± 1.5	2.0 ± 1.6	<0.001	1.3	100%
Day frequency	0.9 ± 0.9	0.6 ± 0.7	0.4 ± 0.5	<0.001	0.8	99%
Nocturia	1.3 ± 1.0	0.6 ± 0.7	0.7 ± 0.6	<0.001	1.2	100%
Urgency	1.2 ± 1.0 (74)	0.3 ± 0.5 (28)	0.9 ± 0.8	<0.001 (<0.001)	1.1	100%
Bladder pain	0.2 ± 0.6	0.08 ± 0.3	0.2 ± 0.5	0.02	0.4	80%
ICIQ-UI SF (n = 35)	8.1 ± 5.6	3.4 ± 4.3	4.7 ± 4.1	<0.001	1.1	100%
UDI-6 (n = 35)	30.2 ± 21.4 (66)	11.9 ± 16.6 (34)	18.3 ± 17.9	<0.001 (<0.001)	1	100%
Frequency	1.8 ± 1.8 (38)	0.7 ± 1.3 (15)	1.1 ± 1.6	0.001 (0.008)	0.7	98%
Urgency incontinence	1.6 ± 1.7 (34)	0.6 ± 1.2 (17)	0.9 ± 1.4	0.001 (0.04)	0.6	92%
Stress incontinence	1.6 ± 1.5 (38)	0.5 ± 0.9 (19)	1.2 ± 1.5	0.001 (0.03)	0.8	99%
Drops	1.8 ± 1.7 (38)	0.5 ± 1.1 (15)	1.3 ± 1.4	<0.001 (0.008)	0.9	99%
Difficulty emptying bladder	0.2 ± 0.8 (6)	0.2 ± 0.9 (6)	0.0 ± 0.6	1 (1)		
Pain discomfort from the lower abdomen or genital region	0.5 ± 0.9 (13)	0.2 ± 0.6 (4)	0.3 ± 0.9	p = 0.1 (p = 0.08)		
KHQ (n = 35)	235.9 ± 226.1	114.1 ± 165.8	121.8 ± 114.9	<0.001	1.1	100%
General Health Perception	35.3 ± 20.6	20.7 ± 14.2	14.6 ± 16.6	<0.001	0.9	99%
Incontinence impact	38.1 ± 37.2	17.6 ± 26.5	20.8 ± 28.0	0.001	0.7	98%
Role limitations	29.5 ± 35.5	12.4 ± 24.4	17.1 ± 23.4	0.001	0.7	98%
Physical limitations	28.1 ± 33.8	11.6 ± 21.7	16.5 ± 22.3	0.001	0.7	98%
Social limitations	17.5 ± 29.4	10.8 ± 23.6	6.7 ± 12.3	0.007	0.5	80%
Personal relationships	18.9 ± 33.3	6.1 ± 20.7	12.8 ± 24.2	0.01	0.5	80%
Emotions	28.9 ± 38.9	10.8 ± 24.9	18.5 ± 28.2	0.001	0.7	98%
Sleep/Energy	20.5 ± 28.9	12.9 ± 23.9	7.9 ± 14.5	0.002	0.5	80%
Severity measures	28.8 ± 29.8	12.8 ± 22.6	15.9 ± 18.7	<0.001	0.9	99%

<sup>a</sup> Mean ± SD values of the outcomes are presented. The presence and the calculated p-values of the presence decrease is presented in the parenthesis. The presence of each LUTS was calculated using the number of the included participants (n = 53).

<sup>b</sup> Wilcoxon signed rank-test for paired samples was used for the statistical analysis. Effect size was calculated based on Cohen's d, derived from the mean of difference ± SD of difference, using the G-Power statistical program. The thresholds for the interpretation of the effect size were 0.2, 0.5 and 0.8 for small, medium and large respectively. The power of study was calculated post-hoc for the effect size of each outcome at a level of significance 5% and the given number of participants.

using the ICIQ-FLUTS and not voiding dairies. In addition, this study was not designed to include women with a history of recurrent UTIs and/or vaginitis, and we cannot derive conclusions of the CO<sub>2</sub>-Laser effect in this group of women. Furthermore, there is a relevant short follow-up period and it remains to be seen for how long these results would last.

Despite the above potential limitations, this study has several strengths. This is a prospective study, with a well-defined group of participants. The assessors of all samples, parameters and data were blinded to all details related to the participants, although a possible breach in the blindness of the evaluators cannot be excluded. The assessment of the CO<sub>2</sub>-Laser effect was performed with the intention to investigate both principles of the treatment. Furthermore, confirmation of the results from the previously published studies on the CO<sub>2</sub>-Laser and its effect on the VVA-symptoms, FSFI and VHIS, is provided. Additional strengths of this study are: the performance of a power calculation (a priori and post-hoc), the estimation of the effect size of the results and the assessment of baseline characteristics as potential predictors of the women who could benefit the best from the CO<sub>2</sub>-Laser therapy.

## 5. Conclusions

The CO<sub>2</sub>-Laser therapy could be a valid non-hormonal therapeutic option for the clinical signs and symptoms of the GSM. This finding is of great importance particularly for women that are not allowed to use vaginal estrogens due to a history of estrogen-sensitive cancer or not willing to use them due to personal perceptions. The results of our study indicates that CO<sub>2</sub>-Laser may be effective in decreasing both the VVA symptoms and LUTS and improving the VMV, VHIS, sexual function and general health perception of the women with clinical signs and symptoms of GSM. The indication of restoration of the local pathophysiology and the alleviation of GSM symptoms by the use of CO<sub>2</sub>-Laser, decreases the possibility of a placebo effect of the therapy. However, larger

studies with a control arm are needed, for our findings to be safely generalized, as well as studies for the cost-effectiveness of the treatment.

## Contributors

E.P. was responsible for data extraction and analysis, and drafted the manuscript.

T.G. evaluated the participants' clinical signs and drafted the manuscript.

A.T. was responsible for cytological evaluation.

D.Z. was responsible for the random allocation of participants and data collection and entry.

S.A. conceived the idea of the study, acted as project manager, evaluated the participants' clinical signs, and drafted the manuscript.

All authors contributed to the interpretation of the data or the work, were involved in drafting the work or revising it critically for important intellectual content, and read and approved the final version of the manuscript.

## Conflict of interest

S.S. has had financial relations (expert testimonies and lectures) with DEKA Laser.

All other authors declare they have no conflicts of interest.

## Funding

No funding was received for this study.

## Ethical approval

The study protocol was approved by the Ethics Committee of the "Alexandra" Hospital, Athens, Greece.

All participants signed an informed consent form.

### Provenance and peer review

This article has undergone peer review.

### Acknowledgements

We thank the following staff of our urogynaecology unit for their help during the study: Vassiliki Papadopoulou (lead specialist nurse) for administrative-logistic work (appointments, arranging follow-up, providing information); Maria Papaefthimiou (member of the cytology department) for evaluation of cytological samples (blinded); and Christina Nikka (midwife) for the pH measurement (blinded).

### References

- [1] D.J. Portman, M.L.S. Gass, On behalf of the Vulvovaginal Atrophy Terminology Consensus Conference Panel, Genitourinary syndrome of menopause: new terminology for vulvovaginal atrophy from the international society for the study of women's sexual health and the north american menopause society, *Menopause* 21 (2010) 1063–1068.
- [2] D.W. Sturdee, N. Panay, on behalf of the International Menopause Society Writing Group. Recommendations for the management of postmenopausal vaginal atrophy, *Climacteric* 13 (2010) 509–522.
- [3] J. van der Laak, L. de Bie, H. de Leeuw, P. de Wilde, A. Hanselaar, The effect of Replens on vaginal cytology in the treatment of postmenopausal atrophy: cytomorphology versus computerized cytometry, *J. Clin. Pathol.* 55 (2002) 446–451.
- [4] M. Rees, F.R. Pérez-López, I. Ceasu, H. Depypere, T. Erel, I. Lambrinouadaki, K. Schenck-Gustaffson, T. Simoncini, Y. van der Schouw, F. Tremolieres, EMAS. EMAS clinical guide: low-dose vaginal estrogens for postmenopausal vaginal atrophy, *Maturitas* 73 (2012) 171–174.
- [5] D.D. Rahn, C. Carberry, T.V. Sanses, M.M. Mamik, R.M. Ward, K.V. Meriwether, C.K. Olivera, H. Abed, E.M. Balk, M. Murphy, Society of Gynecologic Surgeons Systematic Review Group, Vaginal estrogen for genitourinary syndrome of menopause: a systematic review, *Obstet. Gynecol.* 124 (2014) 1147–1156.
- [6] A. Pieralli, M.G. Fallani, A. Becorpi, C. Bianchi, S. Corioni, M. Longinotti, Z. Tredici, S. Guaschino, Fractional CO<sub>2</sub> laser for vulvovaginal atrophy (VVA) dyspareunia relief in breast cancer survivors, *Arch. Gynecol. Obstet.* (May (12)) (2016) (Epub ahead of print).
- [7] S. Salvatore, R.E. Nappi, M. Parma, R. Chionna, F. Lagona, N. Zebinati, S. Ferrero, M. Origoni, M. Candiani, U. Leone Roberti Maggiore, Sexual function after fractional microablative CO<sub>2</sub> laser in women with vulvovaginal atrophy, *Climacteric* 18 (2015) 219–225.
- [8] A. Perino, A. Calligaro, F. Forlani, C. Tiberio, G. Cucinella, A. Svelato, S. Saitta, G. Calagna, Vulvo-vaginal atrophy: a new treatment modality using thermos-ablative fractional CO<sub>2</sub> laser, *Maturitas* 80 (2015) 296–301.
- [9] S. Salvatore, R.E. Nappi, N. Zerinati, A. Calligaro, S. Ferrero, M. Origoni, M. Candiani, U. Leone Roberti Maggiore, A 12-week treatment with fractional CO<sub>2</sub> laser for vulvovaginal atrophy: a pilot study, *Climacteric* 17 (2014) 363–369.
- [10] C. Persu, C.R. Chapple, V. Cauni, S. Gutue, P. Geavlete, Pelvic Organ Prolapse Quantification System (POP-Q) – a new era in pelvic prolapse staging, *J. Mid. Life* 4 (2011) 75–81.
- [11] M.A. Weber, J. Limpens, J.P.W.R. Roovers, Assessment of vaginal atrophy: a review, *Int. Urogynecol. J.* 26 (2015) 15–28.
- [12] S. Athanasiou, E. Pitsouni, S. Antonopoulou, D. Zacharakis, S. Salvatore, M.E. Falagas, T. Grigoriadis, The effect of Microablative Fractional CO<sub>2</sub> Laser on vaginal flora of postmenopausal women, *Climacteric* (2016), <http://dx.doi.org/10.1080/13697137.2016.1212006>.
- [13] R. Rosen, C. Brown, J. Heiman, S. Leiblum, C. Meston, R. Shabsigh, D. Ferguson, R. D'Agostino Jr., The Female Sexual Function Index (FSFI): a multidimensional self-report instrument for the assessment of female sexual function, *J. Sex Marital Ther.* 26 (2000) 191–208.
- [14] S. Athanasiou, T. Grigoriadis, N. Kyriakidou, G. Giannoulis, A. Antsaklis, The validation of international consultation on incontinence questionnaires in the Greek language, *NeuroUrol. Urodyn.* 31 (2012) 1141–1144.
- [15] T. Grigoriadis, S. Athanasiou, G. Giannoulis, S.C. Mylona, D. Lourantou, A. Antsaklis, Translation and psychometric evaluation of the Greek short forms of two conditions-specific quality of life questionnaires for women with pelvic floor disorders: PFDI-20 and PFIQ-7, *Int. Urogynecol. J.* 24 (2013) 2131–2144.
- [16] C.J. Kelleher, L.D. Cardozo, V. Khullar, S. Salvatore, A new questionnaire to assess the quality of life of urinary incontinent women, *Br. Obstet. Gynecol.* 104 (1997) 1374–1379.
- [17] C.J. Kelleher, A.M. Pleil, P.R. Reese, S.M. Burgess, P.H. Brodish, How much is enough and who says so, *BJOG* 111 (2004) 605–612.
- [18] J. Hustin, G.J.A. Drykoningen, Estrogen treatment of postmenopausal vaginal atrophy—a cytological assessment, *Maturitas* 1 (1979) 207–213.
- [19] G. Bachmann, C. Bouchard, D. Hoppe, R. Ranganath, C. Altomare, A. Vieweg, J. Graepel, E. Helzner, Efficacy and safety of low-dose regimens of conjugated estrogens cream administered vaginally, *Menopause* 16 (2009) 719–727.
- [20] J. Simon, L. Nachtigall, R. Gut, E. Lang, D.F. Archer, W. Utian, Effective treatment of vaginal atrophy with an ultra-low-dose estradiol vaginal tablet, *Obstet. Gynecol.* 112 (2008) 1053–1060.
- [21] U. Jaisamrarn, S. Triratanachatt, S. Chaikittisilpa, P. Grob, V. Prasasuskas, N. Taechakraichana, Ultra-low-dose estradiol and lactobacilli in the local treatment of postmenopausal vaginal atrophy, *Climacteric* 16 (2013) 347–355.
- [22] C. Kelleher, E. Cortes, Defining success in overactive bladder management: the importance of patient-focused outcomes, *BJOG* 113 (Suppl 2) (2006) 9–18.
- [23] Y. Homma, S. Uemura, Use of the short form of King's Health Questionnaire to measure quality of life in patients with overactive bladder, *BJU Int.* 93 (2004) 1009–1013.
- [24] A. Poświata, T. Socha, J. Opara, Prevalence of stress urinary incontinence in elite female endurance athletes, *J. Hum. Kinet.* 44 (2014) 91–96.
- [25] S. Srikrishna, D. Robinson, L. Cardozo, A longitudinal of patient and surgeon goal achievement 2 years after surgery following pelvic floor dysfunction surgery, *BJOG* 117 (2010) 1504–1511.
- [26] T.A. De Boer, M.C.P. Slieker-ten Hove, C.W. Burger, M.E. Vierhout, The prevalence and risk factors of overactive bladder symptoms and its relation to pelvic organ prolapse symptoms in a general female population, *Int. Urogynecol. J.* 22 (2011) 569–575.

ORIGINAL ARTICLE

## The effect of microablative fractional CO<sub>2</sub> laser on vaginal flora of postmenopausal women

S. Athanasiou<sup>a</sup>, E. Pitsouni<sup>a,b</sup>, S. Antonopoulou<sup>c</sup>, D. Zacharakis<sup>a</sup>, S. Salvatore<sup>d</sup>, M. E. Falagas<sup>b,e,f</sup> and T. Grigoriadis<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Urogynecology Unit, 1st Department of Obstetrics and Gynecology, "Alexandra" Hospital, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece; <sup>b</sup>Alpha Institute of Biomedical Sciences (AIBS), Athens, Greece; <sup>c</sup>Microbiology Department, "G. Gennimatas" General Hospital, Athens, Greece; <sup>d</sup>Obstetrics and Gynecology Unit, Vita-Salute San Raffaele University, IRCCS San Raffaele Hospital, Milan, Italy Urogynecology Unit; <sup>e</sup>Department of Medicine-Infectious Diseases, IASO General Hospital, Athens, Greece; <sup>f</sup>Department of Medicine, Tufts University School of Medicine, Boston, MA, USA

### ABSTRACT

**Objectives:** To assess the effect of microablative fractional CO<sub>2</sub> laser (MFCO<sub>2</sub>-Laser) therapy on the vaginal microenvironment of postmenopausal women.

**Methods:** Three laser therapies at monthly intervals were applied in postmenopausal women with moderate to severe symptoms of genitourinary syndrome of menopause, pH of vaginal fluid >4.5 and superficial epithelial cells on vaginal smear <5%. Vaginal fluid pH values, fresh wet mount microscopy, Gram stain and aerobic and anaerobic cultures were evaluated at baseline and 1 month after each subsequent therapy. Nugent score and Hay-Ison criteria were used to evaluate vaginal flora.

**Results:** Fifty-three women (mean age 57.2 ± 5.4 years) participated and completed this study. MFCO<sub>2</sub>-Laser therapy increased *Lactobacillus* ( $p < 0.001$ ) and normal flora ( $p < 0.001$ ) after the completion of the therapeutic protocol, which decreased vaginal pH from a mean of 5.5 ± 0.8 (initial value) to 4.7 ± 0.5 ( $p < 0.001$ ). The prevalence of *Lactobacillus* changed from 30% initially to 79% after the last treatment. Clinical signs and symptoms of bacterial vaginosis, aerobic vaginitis or candidiasis did not appear in any participant.

**Conclusion:** MFCO<sub>2</sub>-Laser therapy is a promising treatment for improving the vaginal health of postmenopausal women by helping repopulate the vagina with normally existing *Lactobacillus* species and reconstituting the normal flora to premenopausal status.

### ARTICLE HISTORY

Received 13 February 2016  
Revised 1 June 2016  
Accepted 3 July 2016  
Published online 17 August 2016

### KEYWORDS

Vaginal atrophy; menopause; intravaginal therapy; urinary tract infections; UTIs; vaginitis; urogenital infections; dyspareunia

### Introduction

The vaginal microenvironment of postmenopausal women differs from that of women in premenopausal status mainly due to a lack of estrogens<sup>1,2</sup>. In premenopausal women, estrogens are considered essential not only for the proliferation of the vaginal epithelial cells but also for the production of glycogen, an essential factor for the growth of vaginal lactobacilli. Vaginal lactobacilli play a key role for a healthy vaginal equilibrium due to their competitive activity to other pathogens but also because they are responsible for maintaining an acidic pH by producing lactic acid and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>3-6</sup>. In postmenopausal women, a decrease in *Lactobacillus* species and a rise of vaginal pH values over 4.5 are observed, resulting in the loss of the local vaginal defense mechanisms against bacterial pathogens, which may predispose to local inflammation and/or infections<sup>7,8</sup>.

The disturbance of Lactobacillary flora has been correlated with the presence of *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis*, enterococci, group B streptococci, and *Escherichia coli*<sup>9</sup>. Available data indicate that pre-existing vaginal colonization with pathogenic enterobacteria is essential for the appearance and recurrence of urinary tract infections (UTIs)<sup>10</sup>.

Indeed, postmenopausal women are prone to UTIs with an incidence of about 8% per year and a 4% likelihood of recurrence, while asymptomatic bacteriuria has been estimated in up to 15% of women<sup>11,12</sup>.

Various therapeutic strategies, hormonal or not, oral or local, have been proposed for the improvement of the vaginal microecosystem of postmenopausal women (e.g. estrogens, probiotics, combination of vaginal estrogens with live *Lactobacillus*)<sup>13-23</sup>. Hormonal therapy (oral or local) has been associated with a healthier vaginal microecosystem by repopulating the *Lactobacillus* species to a premenopausal status and by reducing the pH of vaginal fluid<sup>12,14-24</sup>. The use of vaginal estrogens compared to placebo decreased the incidence of UTIs in postmenopausal women<sup>25</sup>. However, the ideal management for the achievement of the optimal benefit-risk balance is still under investigation. The choice of estrogen therapy should be guided by clinical experience and patient preference<sup>12</sup>. Moreover, possible adverse events of estrogens and controversial guidance from physicians make the women reluctant to use them, particularly those with a history of estrogen-sensitive cancers, such as endometrial and breast cancers<sup>26</sup>.

Recently, an intravaginal microablative fractional CO<sub>2</sub> laser (MFCO<sub>2</sub>-Laser) procedure has been introduced for the treatment of postmenopausal women with vulvovaginal atrophy (VVA)<sup>27–29</sup>. Initial reports indicated that the MFCO<sub>2</sub>-Laser treatment improves significantly the VVA symptoms, sexual function and quality of life of postmenopausal women, as well as the vaginal health index<sup>27–29</sup>. Other studies found that MFCO<sub>2</sub>-Laser therapy restores the thickness of the squamous stratified epithelium of the vaginal mucosa with a significant storage of glycogen in the epithelial cells and remodels the vaginal connective tissue with the production of neocollagen and ground substance molecules<sup>30,31</sup>.

Genitourinary syndrome of menopause (GSM) is a new terminology more accurate than the terms of VVA/atrophic vaginitis, because it describes the clinical signs and symptoms of the vulva, vagina and lower urinary system. In contrast, VVA/atrophic vaginitis describes the appearance of the vulvovaginal structures only<sup>32</sup>. The GSM has a prevalence of more or less 50%, depending on country of origin, with a negative impact on sexuality, quality of life and well-being<sup>33–37</sup>. There are many different strains of lactobacilli (e.g. *L. crispatus*, *L. Jensenii*, *L. iners*) and to study such a population is relevant for GSM. However, as the status of vaginal glycogen is indicative of the estrogenic effect, the general population of lactobacilli, as assessed in the routine practice, provides indirect information regarding the estrogenic status. To our knowledge there is currently no evidence regarding the potential impact that the intravaginal MFCO<sub>2</sub>-Laser therapy may have on the vaginal microenvironment in women with symptoms of GSM.

The aim of the current study was to assess the effect of MFCO<sub>2</sub>-Laser laser therapy on the vaginal microenvironment of postmenopausal women.

## Material and methods

### Participants and study design

This prospective study has been conducted at the Urogynecologic Unit of a tertiary referral hospital. The local Ethics Committee approved the study protocol. All women eligible for inclusion in the study provided written informed consent before initiating the therapeutic protocol.

Postmenopausal women with at least one moderate to severe symptom of GSM, as defined by the International Society for the Study of Women's Health and The North American Menopause Society<sup>38</sup>, were eligible to participate in this study. Women were also required to have an objective evidence of menopause; the percentage of superficial vaginal epithelial cells, in the maturation index of vaginal smear (MI) and the vaginal fluid pH had to be  $\leq 5\%$  and  $> 4.5$ , respectively. The typical proportion of superficial epithelial cells in postmenopausal women with VVA is less than 5%<sup>7</sup>, whereas vaginal fluid with a pH  $> 4.5$  has a sensitivity of 84.9% for menopausal diagnosis, better than follicle stimulating hormone (sensitivity of 77.4%)<sup>8</sup>.

We excluded from the study women who had used any form of hormone therapy (systemic or local) within the previous 6 months, lubricants or vaginal moisturizers within the

last month, suffering from active genital infections (e.g. bacterial vaginosis, genital herpes), with prolapse stage  $\geq \text{II}$  according to the pelvic organ prolapse quantification (POP-Q) system<sup>39</sup>, and any disease that would interfere with compliance to the protocol.

The selection procedure for participation in the study involved: a questionnaire in which women were asked to report the intensity of each individual GSM symptom (dyspareunia, vaginal dryness, vaginal itching, vaginal burning, dysuria, frequency and urgency) measured by a 10-cm visual analogue scale, in which zero applied to 'absence of symptom' and ten to 'symptom as bad as could be'. A score of 4–7 was considered moderate and a score of 8–10 severe. Women with moderate to severe symptom/s were then clinically examined in order to assess signs of VVA and pelvic organ prolapse. A week after the vaginal examination, vaginal samples for microbiological and cytological processing were obtained from all potential participants in the study protocol. Eligible postmenopausal women for participating in the therapeutic protocol were assigned a randomly generated number and entered in a database. In each subsequent therapy, a new number, different from those previously used, was randomly assigned to each participant. In this way the microbiologist was blind to all information regarding participants' clinical findings and treatment status. In addition, an experienced nurse, who was blind to all information regarding participants' clinical findings and treatment status, performed the evaluation of pH indicator strips.

Participants in the study protocol received intravaginal therapy monthly for 3 months, with MFCO<sub>2</sub>-Laser system (SmartXide<sup>2</sup> V<sup>2</sup>LR, Monalisa Touch, DEKA, Florence, Italy). The following settings of the MFCO<sub>2</sub>-Laser were used: D-Pulse mode, dot power, 40 W; dwell time, 1000  $\mu\text{s}$ ; and dot spacing, 1000  $\mu\text{m}$ . The smart stack parameter from 1 to 3 was used for the treatment of the vaginal canal and the dot power was reduced to 24 W; dwell time, 400  $\mu\text{s}$ ; and dot spacing, 1000  $\mu\text{m}$  for the treatment of the vaginal introitus. The procedure of MFCO<sub>2</sub>-Laser was performed as previously described<sup>29</sup>. The participants were not allowed to use any lubricants and/or moisturizers during the study protocol.

Before each laser application, a sterile swab was inserted into the vaginal canal and a sample was obtained from the posterior fornix of the vagina. Vaginal samples were placed in a transport gel (Stuart). pH indicator strips (MColorpHast<sup>TM</sup>, Merck, Germany) were applied against the lateral vaginal wall using sterile forceps, followed by a vaginal lavage for wet mount. Smears from vaginal samples were placed on a glass slide, observed under microscope for *Trichomonas vaginalis* and *Candida* species and stained afterwards according to standard Gram stain procedure. Cultures for aerobic and anaerobic bacteria species were also performed, using MacConkey agar, blood agar, Sabouraud dextrose agar, chocolate agar as culture media, focusing on bacteria with potential clinical impact (e.g. aerobic vaginitis<sup>39</sup>, UTIs, vaginal candidiasis). Mycoplasma, ureoplasma and/or corynebacterium species were not assessed. Lactobacilli, *Mobiluncus*, *Gardnerella* and *Bacteroides* identified by Gram stain were not further evaluated by cultures. All samples were collected at baseline and at each subsequent therapy.

The vaginal flora was evaluated according to the European guidelines on the management of vaginal discharge, using the Nugent score and Hay-Ison criteria<sup>39–42</sup>. Predominant bacteria were defined as a single bacterium prevailing from all visible bacteria under Gram staining at baseline and subsequent laser therapies. The bacteria that could be identified by microscopy of Gram-stained smears were categorized as gram-positive or gram-negative.

Normal vaginal epithelial cells and leukocytes were evaluated using Gram stain in a similar manner to Nugent scoring for morphotypes, receiving scores of 0, 1, 2, 3 and 4. When vaginitis was assessed based only on laboratory findings without any clinical signs and symptoms, pharmaceutical therapy was not recommended according to the Centers for Disease Control and Prevention guidelines<sup>43</sup>.

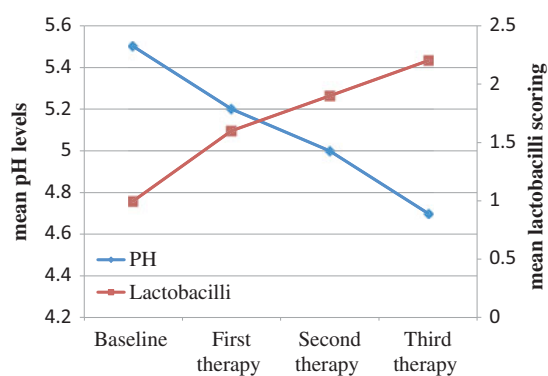
### Statistical analysis

Statistical analysis was performed comparing baseline and subsequent therapies. The distribution of data was assessed using the Shapiro–Wilk test. For abnormally distributed variables, Wilcoxon signed rank test for related paired samples and Spearman correlation coefficient were used. For categorical variables,  $\chi^2$  test was used. Logistic regression analysis was performed using as dependent variable the threshold of 4.5 for pH values of vaginal fluid at the final visit. All tests were based on a significance level of 5% ( $p < 0.05$ ). Data were presented as mean  $\pm$  standard deviation and as percentages (%). SPSS statistical software was used for the analyses.

### Results

Eighty-four postmenopausal women with symptoms of GSM sought treatment in our department. Thirty-one women were excluded as they did not meet the inclusion criteria; 18 had pH  $< 4.5$ , two had a POP-Q stage  $\geq$  II, and 11 reported mild symptoms of GSM. Thus, 53 postmenopausal women (mean age  $57.2 \pm 5.4$  years, mean body mass index  $26.0 \pm 4.8$  kg/m<sup>2</sup>, and mean years since the last menstrual period  $8.9 \pm 6.6$ ) were eligible for inclusion in the study protocol. The majority of the participants had natural menopause (77%), were non-smokers (70%), and married (85%), with dyspareunia and dryness being the most common symptoms (77% and 87%, respectively). Seven participants had a history of hysterectomy; in six participants hysterectomy was the cause of menopause and in one woman the uterus and adnexals were removed after the onset of menopause due to endometrial cancer stage Ia. All participants completed the study protocol. The baseline demographic characteristics of the study participants are shown in Table S1 (see Supplementary Table 1 at <http://dx.doi.org/10.1080/13697137.2016.1212006>).

A significant progressive reduction of vaginal pH between baseline and 1 month after the third laser therapy was observed (Figure 1). At the end of the therapeutic protocol, the pH of the vaginal fluid decreased in 47 (89%) participants. After the completion of the therapeutic protocol, 43 (81%) participants had pH  $< 5$  and 17 (32%) pH  $< 4.5$ . The pH



**Figure 1.** Decrease in the mean vaginal pH levels and increase in the growth of lactobacilli at baseline, and after subsequent therapies. The mean values of pH at baseline and after the first, second and third laser therapy were  $5.5 \pm 0.8$ ,  $5.2 \pm 0.5$  ( $p = 0.002$ ),  $5.0 \pm 0.6$  ( $p < 0.001$ ) and  $4.7 \pm 0.5$ , respectively ( $p < 0.001$ ). Increase in the growth of Lactobacilli was observed after the first ( $p = 0.001$ ), the second ( $p < 0.001$ ) and the final laser therapy ( $p < 0.001$ ).

decreased  $< 4.5$  independently of the participant's baseline demographic characteristics (e.g. years since the last menstrual period) and the characteristics of vaginal flora at baseline (pH, vaginal flora according to Nugent scoring and to Hay-Ison criteria). A significant progressive increase of *Lactobacillus* morphotypes was observed (Figure 1).

At baseline, the predominant bacteria identified were *Lactobacillus* (30%), *Bacteroides* (2%), *Mobiluncus* (2%), *Gardnerella* (6%), gram-positive (6%) and gram-negative (11%). The bacteria were evenly grown in 28% of participants while 15% did not have morphotypes of any bacteria species (i.e. complete absence of vaginal flora). In contrast, 1 month following the last therapy, all treated women had some growth of morphotypes. Specifically, 79% of women had *Lactobacillus* as the predominant bacteria species, 2% had *Gardnerella*, 8% gram-positive, 4% gram-negative, 2% had *Candida* and in 6% no predominant bacteria were present.

The changes observed in the vaginal flora according to the Nugent scoring system and Hay-Ison criteria are presented in Table 1. The presence of microorganisms in Gram stain and cultures are presented in Table 2. The detailed changes of *Lactobacillus*, *Gardnerella*, *Mobiluncus* and *Bacteroides* based on the Nugent scoring system are presented in Table S2 (see Supplementary Table 2 at <http://dx.doi.org/10.1080/13697137.2016.1212006>).

Normal vaginal epithelial cells significantly increased after the second and third therapies compared to baseline ( $p = 0.007$  and  $p < 0.001$ , respectively). At baseline, 33% of participants' epithelial cells had a score of 3 or 4, 21% a score of 2, 40% a score of 1, and 6% a score of 0. After three laser therapies, 58% of participants had a score of 3 or 4, while 26% a score of 2 and 16% a score of 1. Leukocyte proportion remained unchanged through the therapeutic protocol.

All women had no clinical signs and symptoms of urogenital infections and did not receive pharmaceutical therapy at any stage of the protocol. At baseline, 16 participants were not sexually active, due to the intensity of the GSM symptoms. After treatment, 15 of these women resumed sexual activity. No serious adverse events occurred during the

**Table 1.** The vaginal flora assessed according to the Nugent scoring and the Hay-Ison criteria during the study period with the fractional microablative CO<sub>2</sub> laser system. Data are given as n (%)

	Baseline (n = 53)	After 1 laser therapy (n = 52)	After 2 laser therapies (n = 53)	After 3 laser therapies (n = 53)	p Value <sup>c</sup>
<b>Nugent flora<sup>a</sup></b>					
Normal	25 (47.2)	39 (75)	45 (84.9)	46 (86.7)	<0.001
Intermediate	23 (43.4)	13 (25)	7 (13.2)	6 (11.3)	
Bacterial vaginosis	5 (9.4)	0 (0)	1 (1.9)	1 (1.9)	
<b>Hay-Ison flora<sup>b</sup></b>					
Grade 0	17 (32.1)	5 (9.6)	7 (13.2)	0 (0)	
Grade 1	24 (45.3)	37 (71.2)	40 (75.5)	48 (90.6)	<0.001
Grade 2	3 (5.7)	6 (11.5)	2 (3.8)	4 (7.6)	
Grade 3	7 (13.2)	1 (1.9)	1 (1.9)	1 (1.9)	
Grade 4	2 (3.8)	3 (5.8)	3 (5.7)	0 (0)	

<sup>a</sup>, Nugent flora refers to vaginal flora according to the Nugent scoring system. It was obtained by using the sum of scores resulting from the synthesis of *Lactobacillus*, *Gardnerella*, *Bacteroides* and *Mobiluncus* morphotypes. A score of 0–3 indicated normal flora, a score of 4–6 was considered intermediate and a score of ≥7 was defined as bacterial vaginosis<sup>40,41</sup>; <sup>b</sup>, Hay-Ison Flora refers to vaginal flora according to Hay-Ison criteria. Grade 0: absence of bacterial species (lactobacilli, *Gardnerella*-like and gram-positive species) and presence of only epithelial cells; Grade 1 (normal flora): predominantly *Lactobacillus* morphotypes; Grade 2 (intermediate): mixed flora with some lactobacilli present, but *Gardnerella* or *Mobiluncus* morphotypes also present; Grade 3 (bacterial vaginosis, BV): predominantly *Gardnerella* and/or *Mobiluncus* morphotypes, clue cells, with few or absent *Lactobacillus* morphotypes; Grade 4 (aerobic vaginitis flora): growth of gram-positive cocci only without *Lactobacillus* morphotypes, not related to BV<sup>41,42</sup>; <sup>c</sup>, p value at level <0.05 is significant. The p value was calculated comparing the number of women with normal flora (according to Nugent and Hay-Ison) before and after the completion of the therapeutic protocol

**Table 2.** Presence of microorganisms in the vaginal fluid of the women included in this study. Data are given as n (%)

Microorganisms <sup>a</sup>	Baseline (n = 53)	After 1 laser therapy (n = 52)	After 2 laser therapies (n = 53)	After 3 laser therapies (n = 53)	p Value <sup>b</sup>
<i>Lactobacillus</i>	36 (67.9)	45 (86.5)	46 (86.8)	53 (100)	<0.001
<i>Gardnerella vaginalis</i>	5 (9.4)	2 (3.8)	4 (7.5)	4 (7.5)	0.7
<i>Bacteroides</i>	5 (9.4)	5 (9.6)	4 (7.5)	2 (3.8)	0.2
<i>Mobiluncus</i>	4 (7.5)	2 (3.8)	2 (3.8)	0 (0)	0.04
<i>Streptococcus agalactiae</i>	5 (9.4)	2 (3.8)	1 (1.9)	2 (3.8)	0.2
<i>Enterococcus faecalis</i>	12 (22.6)	8 (15.1)	7 (13.2)	6 (11.3)	0.1
<i>E. coli</i>	20 (37.7)	10 (19.2)	6 (11.3)	9 (16.9)	0.02
<i>Klebsiella</i>	3 (5.7)	2 (3.8)	1 (1.9)	0 (0)	0.08
<i>Proteus</i>	1 (1.9)	2 (3.8)	3 (5.7)	1 (1.9)	1
<i>Candida</i> spp.	1 (1.9)	1 (1.9)	1 (1.9)	1 (1.9)	1

<sup>a</sup>, *Lactobacillus*, *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides*, *Mobiluncus* and *Candida* were identified by Gram stain. *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus* and *Candida* were identified by cultures using MacConkey agar, blood agar, Sabouraud dextrose agar, chocolate agar as cultures media. Microscopy of wet mount was also used for *Candida*. *Candida albicans* was identified at baseline and after three laser therapies, while *Candida glabrata* was identified after one and two laser therapies; <sup>b</sup>, p values presented were calculated at a level of significance of 0.05 comparing baseline with 1 month after the three laser therapies

period of the laser treatment, but only a temporary mild irritation of the introitus was noted. This irritation started immediately after the laser treatment, lasted up to 2 h and resolved spontaneously.

## Discussion

The intravaginal MFCO<sub>2</sub>-Laser has recently been introduced to ameliorate symptoms of GSM without the adverse events of other modes of therapy, especially the hormonal ones<sup>26–28</sup>. Other laser technologies are available (e.g. erbium laser)<sup>44,45</sup>. Erbium has a thermal effect while the MFCO<sub>2</sub>-Laser has both ablative and thermal effects, stimulating heat shock proteins and other factors (e.g. TGF-β), prompting neocollagenesis and neoangiogenesis, resulting in tissue rejuvenation<sup>45,46</sup>. The results of the present study show that MFCO<sub>2</sub>-Laser therapy improved the vaginal flora with a significant reduction of the pH of the vaginal fluid, and a significant increase of *Lactobacillus* flora. To our knowledge, this is the first study to assess the effect of MFCO<sub>2</sub>-Laser on the vaginal microenvironment of menopausal women in a clinical aspect.

In the present study, the vaginal fluid pH values gradually declined after each laser therapy, as would be expected if

the women had used estrogens. Although these results were not compared to a control group and should thus be considered with caution, this effect was observed as early as the first treatment session with a further reduction of pH after each session. After completion of the treatment protocol, the mean pH value was 4.7 with the vast majority of participants (81%) having pH <5. In the literature, the reported mean pH values after 12 weeks of vaginal estrogen ranges from 4.6 to 4.9, depending on the type of estrogen, modes of delivery and dosage<sup>16–20,22,23</sup>. In a randomized, controlled trial comparing hyaluronic acid to estradiol vaginal tablets, 14.3% of participants receiving estradiol had pH <5 after the end of the therapeutic protocol and 86% of participants that received estradiol had pH 5.0–5.49<sup>21</sup>.

The progressive reduction of the pH during the study protocol was concomitant with a statistically significant increase in normal vaginal epithelial cells after each monthly treatment. Moreover, the observed increase of the normal vaginal epithelial cells in the current study confirms the results of the histological study of Zerbinati and colleagues<sup>30</sup>. In this study, it was demonstrated that one of the effects of the MFCO<sub>2</sub>-Laser therapy on the vaginal mucosa was a high degree of epithelial exfoliation, with superficial cells filled

with glycogen shedding at the epithelial surface<sup>30</sup>. In the present study, although only 32% of the participants reduced pH levels to <4.5, the statistically significant increase of normal vaginal epithelial cells between baseline and the third laser therapy possibly indicates that, at the end of the study protocol, the re-establishment of vaginal health was still in progress and that the pH may have not reached its lowest value.

The decline of pH described above was in accordance with the increase of *Lactobacillus* morphotypes, to almost a premenopausal status. In a randomized, controlled trial, the prevalences of *Lactobacillus* after the use of vaginal estriol cream and after the application of hyaluronic acid were 55% and 43%, respectively (baseline prevalences were 34% and 31%, respectively)<sup>20</sup>. The prevalence of lactobacilli in the present study was 30% before treatment and reached 79% after the three laser therapies. The lactobacilli predominance is of great importance and is considered as one of two criteria that distinguishes bacterial community groups; the other criterion is considered to be the particular *Lactobacillus* species present<sup>47</sup>. Even though the assessment of the particular *Lactobacillus* species was not conducted in this study, the significant increase of *Lactobacillus* predominance implies that the laser therapy restores the vaginal mucosa in a beneficial manner for the vaginal microecosystem.

After the completion of the therapeutic protocol, the prevalences of gram-negative, gram-positive, *Gardnerella*-like species and *Candida* were 4%, 7.5%, 2%, and 2%, respectively. Although significant decreases were observed only for *E. coli* and *Mobiluncus*, all *Lactobacillus* antagonists had a trend of lowering their growth. Asymptomatic bacterial vaginosis with vagina colonized with pathogens occurs more often than previously thought in postmenopausal women, but is usually not recognized<sup>48</sup>. The prevalences of *Gardnerella*-like species and *Candida* in postmenopausal women without receiving hormone therapy (HT) have been reported as 10–40% and 1%, respectively, while, when HT was administered, the prevalences were 8.3–33.3% and 23.3%, respectively<sup>24</sup>. However, there are no data regarding the prevalence of *Lactobacillus* antagonists in Greek healthy postmenopausal women with or without receiving HT. In the studied population, at the baseline, the colonization of *Gardnerella*-like species was present in 6% of participants, while after the end of the therapeutic laser protocol it was 2%. The low percentage of *Gardnerella*-like species at baseline could be explained by the hygiene habits and the sexual intercourse behavior of the women. Most importantly, the decrease from 6% to 2% of *Gardnerella*-like species shows that MFCO<sub>2</sub>-Laser improves the vaginal equilibrium status and does not predispose to vaginal infections.

Although our study was not designed to include postmenopausal women with a history of recurrent UTIs and/or vaginitis, these women could potentially benefit from the improvement of vaginal flora resulting from treatment with the MFCO<sub>2</sub>-Laser technique. Vaginal colonization with uropathogens is believed to predispose to UTIs and/or recurrences. Hormonal therapy with or without probiotics,

according to the current data, is the only option for maintaining vaginal health in menopausal women and reducing the incidence of UTIs<sup>12,14–25</sup>. Future studies could therefore evaluate whether the MFCO<sub>2</sub>-Laser represents a valid alternative to vaginal estrogens alone or in combination with lactobacilli for relapse prevention, particularly for women with contraindications to hormonal therapies.

A weakness of this study is the lack of a control group. The findings could thus be due to a placebo effect, or other factors (e.g. time). Furthermore, the follow-up period was relatively short and it remains to be seen whether the above-described effect will be persistent in a longer time interval. Another potential weakness is that the study was not designed to evaluate comprehensively the whole vaginal microbiota. However, the microbiological evaluation was based on diagnostic procedures that are performed in the daily clinical practice and was focused on common pathogens related with urogenital infections. On the other hand, the strengths of the study include its prospective design and the use of clearly defined objective and subjective criteria. Moreover, the assessors of all samples, parameters and data were blinded to all the details related to the study participants.

## Conclusion

The novel non-pharmaceutical therapeutic approach of MFCO<sub>2</sub>-Laser in women with symptoms of GSM was found to have a beneficial effect on the vaginal microenvironment. The laser therapy restored the vaginal equilibrium to a healthier status, as would normally be expected if estrogen levels were sufficient. The predominance of *Lactobacillus* species and the more acidic pH of vaginal fluid achieved after the MFCO<sub>2</sub>-Laser therapy could protect postmenopausal women from vaginal infections and inflammation and possibly from UTIs. However, studies with larger sample sizes and longer follow-up period, focusing on the comparison of MFCO<sub>2</sub>-Laser to other therapeutic modalities or placebo, regarding the impact on the prevention of vaginal infections and UTIs, are needed.

## Acknowledgements

We thank “Mycolab” Diagnostic Laboratory of Sexually Transmitted Diseases, Specific infectious diseases, Fungal and Microbiological Examinations, Athens, Greece for its contribution in the microbiological analysis of the vaginal samples.

**Conflict of interest** S.S. has had financial relations (expert testimonies and lectures) with DEKA Laser. The other authors report no potential conflicts of interest.

**Source of funding** Nil.

## References

1. Ginkel PD, Soper DE, Bump RC, Dalton HP. Vaginal flora in postmenopausal women: the effect of estrogen replacement. *Infect Dis Obstet Gynecol* 1993;1:94–7

2. Farage MA, Maibach H. Lifetime changes in the vulva and vagina. *Arch Gynecol Obstet* 2006;273:195–2
3. Hawes SE, Hillier SL, Benedetti J, et al. Hydrogen peroxide-producing lactobacilli and acquisition of vaginal infections. *J Infect Dis* 1996;174:1058–63
4. Sobel JD. Is there a protective role for vaginal flora? *Curr Infect Dis Rep* 1999;1:379–83
5. Boris S, Suarez JE, Vazquez F, Barbes C. Adherence of human vaginal lactobacilli to vaginal epithelial cells and interaction with uropathogens. *Infect Immun* 1998;66:1985–9
6. Osset J, Bartolome RM, Garcia E, Andreu A. Assessment of the capacity of *Lactobacillus* to inhibit the growth of uropathogens and block their adhesion to vaginal epithelial cells. *J Infect Dis* 2001;183:485–91
7. MacBride MB, Rhodes DJ, Shuster LT. Vulvovaginal atrophy. *Mayo Clin Proc* 2010;85:87–94
8. Panda S, Das A, Singh AS, Pala S. Vaginal pH: A marker for menopause. *J Midlife Health* 2014;5:34–7
9. Donders GG, Bosmans E, Dekeersmaecker A, Vereecken A, Van Bulck B, Spitz B. Pathogenesis of abnormal vaginal bacterial flora. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182:872–8
10. Stamey TA. The role of introital enterobacteria in recurrent urinary infections. *J Urol* 1973;109:467–72
11. Brown JS, Vittinghoff E, Kanaya AM, et al. Urinary tract infections in postmenopausal women: effect of hormone therapy and risk factors. *Obstet Gynecol* 2001;98:1045–52
12. North American Menopause Society. The role of local estrogen for treatment of vaginal atrophy in postmenopausal women: 2007 position statement of the North American Menopause Society. *Menopause* 2007;14:355–69
13. Reid G, Bruce AW. Urogenital infections in women: can probiotics help? *Postgrad Med J* 2003;79:428–32
14. Raz R, Stamm WE. A controlled trial of intravaginal estriol in postmenopausal women with recurrent urinary tract infections. *N Engl J Med* 1993;329:753–6
15. Ozkinay E, Terek MC, Yayci M, Kaiser R, Grob P, Tuncay G. The effectiveness of live lactobacilli in combination with low dose estriol (Gynoflor) to restore the vaginal flora after treatment of vaginal infections. *BJOG* 2005;112:234–40
16. Cano A, Estevez J, Usandizaga R, et al. The therapeutic effect of a new ultra low concentration estriol gel formulation (0.005% estriol vaginal gel) on symptoms and signs of postmenopausal vaginal atrophy: results from a pivotal phase III study. *Menopause* 2012;19:1130–9
17. Jaisamrarn U, Triratanachat S, Chaikittisilpa S, Grob P, Prasauskas V, Taechakraichana N. Ultra-low-dose estriol and lactobacilli in the local treatment of postmenopausal atrophy. *Climacteric* 2013;16:347–55
18. Lester J, Pahouja G, Andersen B, Lustberg M. Atrophic vaginitis in breast cancer survivors: a difficult survivorship issue. *J Pers Med* 2015;5:50–66
19. Caruso S, Cianci S, Amore FF, et al. Quality of life and sexual function of naturally postmenopausal women on ultralow-concentration estriol vaginal gel. *Menopause* 2016;23:47–54
20. Chen J, Geng L, Song X, Li H, Giordan N, Liao Q. Evaluation of the efficacy and safety of hyaluronic acid vaginal gel to ease vaginal dryness: a multicenter, randomized, controlled, open-label, parallel-group, clinical trial. *J Sex Med* 2013;10:1575–84
21. Ekin M, Yasar L, Temur M, et al. The comparison of hyaluronic acid vaginal tablets with estradiol vaginal tablets in the treatment of atrophic vaginitis: a randomized controlled trial. *Arch Gynecol Obstet* 2011;283:539–43
22. Ayton RA, Darling GM, Murkies AL, et al. A comparative study of safety and efficacy of continuous low dose oestradiol released from a vaginal ring compared with conjugated equine oestrogen vaginal cream in the treatment of postmenopausal urogenital atrophy. *BJOG* 1996;103:351–8
23. Smith P, Heimer G, Lindskog M, Ulmsten U. Oestradiol-releasing vaginal ring for the treatment of postmenopausal urogenital atrophy. *Maturitas* 1993;16:145–54
24. Farage MA, Miller KW, Sobel JD. Dynamics of the vaginal ecosystem – hormonal influences. *Infect Dis: Res Treat* 2010;3:1–15
25. Perrotta C, Aznar M, Mejia R, Albert X, Ng CW. Oestrogens for preventing recurrent urinary tract infection in postmenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev* 2008;2:CD005131
26. Biglia N, Bounous VE, Sgro LG, D'Alonzo M, Pecchio S, Nappi RE. Genitourinary syndrome of menopause in breast cancer survivors: are we facing new and safe hopes? *Clin Breast Cancer* 2015;15:413–20
27. Perino A, Calligaro A, Forlani F, et al. Vulvo-vaginal atrophy: a new treatment modality using thermo-ablative fractional CO<sub>2</sub> laser. *Maturitas* 2015;80:296–301
28. Salvatore S, Nappi RE, Parma M, et al. Sexual function after microablative CO<sub>2</sub> laser in women with vulvovaginal atrophy. *Climacteric* 2015;18:219–25
29. Salvatore S, Nappi RE, Zerbinati N, et al. A 12-week treatment with fractional CO<sub>2</sub> laser for vulvovaginal atrophy: a pilot study. *Climacteric* 2014;17:363–9
30. Zerbinati N, Serati M, Origoni M, et al. Microscopic and ultrastructural modifications of postmenopausal atrophic vaginal mucosa after fractional carbon dioxide laser treatment. *Lasers* 2015;30:429–36
31. Salvatore S, Leone Roberti Maggiore U, Athanasίου S, et al. Histological study on the effects of microablative fractional CO<sub>2</sub> laser on atrophic vaginal tissue: an ex vivo study. *Menopause* 2015;22:845–9
32. Portman DJ, Gass ML, on behalf of the Vulvovaginal Terminology Consensus Conference Panel. Genitourinary syndrome of menopause: new terminology for vulvovaginal atrophy from the International Society for the Study of Women's Sexual Health and the North American Menopause Society. *Climacteric* 2014;17:557–63
33. Nappi RE, Kokot-Kiepera M. Vaginal Health: Insights, Views and Attitudes (VIVA) – results from an international survey. *Climacteric* 2012;15:36–44
34. Nappi RE, Kingsberg S, Maamari R, Simon J. The CLOSER (CLarifying Vaginal Atrophy's Impact On SEx and Relationships) survey: implications of vaginal discomfort in postmenopausal women and in male partners. *J Sex Med* 2013;10:2232–41
35. Wysocki S, Kingsberg S, Krychman M. Management of vaginal atrophy: implications from the REVIVE Survey. *Clin Med Insights Reprod Health* 2014;8:23–30
36. Nappi RE, Palacios S. Impact of vulvovaginal atrophy on sexual health and quality of life at postmenopause. *Climacteric* 2014;17:3–9
37. Palma F, Volpe A, Villa P, Cagnacci A; Writing Group of AGATA study. Vaginal atrophy of women in postmenopause. Results from a multicentric observational study. The AGATA study. *Maturitas* 2016;83:40–4
38. Persu C, Chapple CR, Cauni V, Gutue S, Geavlete P. Pelvic Organ Prolapse Quantification System (POP-Q) – a new era in pelvic prolapse staging. *J Mid Life* 2011;4:75–81
39. Sherrard J, Donders G, White D, Jensen JS; European IUUSTI. European (IUUSTI/WHO) guideline on the management of vaginal discharge, 2011. *Int J STD AIDS* 2011;22:421–97
40. Nugent RP, Krohn MA, Hillier S. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. *J Clin Microbiol* 1991;297–301
41. Ison CA, Hay PE. Validation of a simplified grading of Gram stained vaginal smears for use in genitourinary medicine clinics. *Sex Transm Infect* 2002;78:413–15
42. Donders G.G, Vereecken A, Bosmans E, Dekeersmaecker G, Spitz B. Definition of a type of abnormal vaginal flora that is distinct from bacterial vaginosis: aerobic vaginitis. *BJOG* 2002;109:34–43



43. Centers for Disease Control and Prevention. 2015 Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. Diseases Characterized by Vaginal Discharge. Available at: [www.cdc.gov/std/tg2015/vaginal-discharge.htm](http://www.cdc.gov/std/tg2015/vaginal-discharge.htm). Accessed February 12, 2016
44. Gambacciani M, Levancini M, Cervigni M. Vaginal erbium laser: the second-generation thermotherapy for the genitourinary syndrome of menopause. *Climacteric* 2015;18:757–63
45. Hutchinson-Colas J, Segal S. Genitourinary syndrome of menopause and the use of laser therapy. *Maturitas* 2015;82:342–5
46. Helbig D, Bondendorf MO, Grunewald S, et al. Immunohistochemical investigation of wound healing in response to fractional photothermolysis. *J Biomed Opt* 2009;14:064044
47. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, et al. Vaginal microbiome of reproductive age women. *PNAS* 2011;108:4680–7
48. Burton JP, Reid G. Evaluation of the bacterial vaginal flora of 20 postmenopausal women by direct (Nugent score) and molecular (polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis) techniques. *J Infect Dis* 2002;186:1770–80